

## Comportamiento de los anticuerpos anti-HLA en pacientes en el Programa Cubano de Trasplante Renal

Behavior of anti-HLA antibodies in patients of the Cuban Renal Transplant Programs

Lelyem Marcell Rodríguez<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7085-9185>

Arturo Chang Monteagudo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0843-372X>

<sup>1</sup>Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [rchematologia@infomed.sld.cu](mailto:rchematologia@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** A los pacientes cubanos del Programa de Trasplante Renal con Donante Vivo y con Donante Cadavérico se les detecta la presencia de anticuerpos anti-HLA.

**Objetivo:** Comparar la alosensibilización poblacional y los valores del porcentaje de anticuerpos anti-HLA contra panel calculado de Trasplante Renal con Donante Vivo y con Donante Cadavérico

**Métodos:** La detección y caracterización de los anticuerpos anti-HLA a 291 candidatos a Trasplante Renal con Donante Cadavérico y 74 del Trasplante Renal con Donante Vivo se realizó por tecnología xMAP de Luminex, desde febrero de 2017 hasta mayo de 2019, en el Laboratorio de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología. Fueron analizadas la frecuencia de anticuerpos anti-HLA específicos de donante en el Trasplante Renal con Donante Vivo y la dependencia entre el tipo de programa, los anticuerpos anti-HLA y el porcentaje de anticuerpos anti-HLA frente a panel calculado.

**Resultados:** La alosensibilización fue baja en el Trasplante Renal con Donante Vivo y alta en el Trasplante Renal con Donante Cadavérico. Predominaron los anticuerpos de clase II. El Trasplante Renal con Donante Cadavérico obtuvo una mayor proporción de estos anticuerpos. El 41,6 % de los pacientes anti-HLA positivos del Trasplante Renal con Donante Vivo tuvieron anticuerpos anti-HLA específicos de donante. En ambos programas, más de dos tercios de los pacientes anti-HLA positivos poseyeron un contra panel calculado superior al 20 %.

**Conclusiones:** Los pacientes del Trasplante Renal con Donante Cadavérico poseen alosensibilización poblacional y contra panel calculado más altos que los del Trasplante Renal con Donante Vivo; aunque la presencia de pre-trasplante de anticuerpos anti-HLA específicos de donante y contra panel calculado es elevada, en este último no es inusual.

**Palabras clave:** anticuerpos anti-HLA; trasplante renal; donante vivo; donante cadáver; DSA; anticuerpos anti-HLA específicos de donante; cPRA; contra panel calculado.

## ABSTRACT

**Introduction:** Cuban patients from the Living Donor Kidney Transplant Program (TRDV) and Cadaveric Donor Program (TRDC) were studied for the presence of anti-HLA antibodies.

**Objective:** To compare the population allo-sensitization and cPRA values of TRDV and TRDC.

**Methods:** Anti-HLA antibodies were detected and characterized in 291 TRDC candidates and 74 TRDV candidates using Luminex xMAP technology, from February 2017 to May 2019, in the Histocompatibility Laboratory of the Institute of Hematology and Immunology,. The frequency of donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) in the TRDV and the dependence between the type of program, anti-HLA antibodies and the calculated panel reactive anti-HLA antibodies (cPRA) were analyzed.

**Results:** Allo-sensitization was low in the TRDV and high in the TRDC. Class II antibodies predominated. The TRDC had a higher proportion of these antibodies. 41.6% of TRDV anti-HLA positive patients had DSA. In both programs, more than two thirds of the anti-HLA positive patients had a cPRA greater than 20%.

**Conclusions:** TRDC have higher population allosensitization and cPRA values than TRDV, although the pre-transplant presence of elevated DSA and cPRA in the latter is not unusual.

**Keywords:** anti-HLA antibodies; renal transplant; living donor, cadaveric donor; DSA; cPRA.

Recibido: 07/03/2023

Aceptado: 20/07/2023

## Introducción

En 1970 se inició el Programa Cubano de Trasplante Renal, primero con Donante Cadavérico (TRDC) y 9 años después con el de Donante Vivo (TRDV). Desde 1988, entre los criterios para la selección automatizada de donantes, se encuentra el porcentaje de anticuerpos anti-HLA contra panel (PRA) de los candidatos.<sup>(1)</sup>

Este estudio permite conocer la probabilidad de tener una prueba cruzada (PC) positiva, lo que es decisivo en la selección de donantes; además de caracterizar los anticuerpos anti-HLA en cuanto a su clase, la especificidad y la fuerza con que reconocen las moléculas HLA, que predice las posibilidades de encontrar un donante compatible en la población.<sup>(2)</sup>

Los anticuerpos anti-HLA continúan siendo los factores clave que afectan el éxito del trasplante de riñón y de otros órganos, pues están involucrados con la función temprana del injerto, el rechazo agudo y crónico, además de la supervivencia del injerto a largo plazo.<sup>(3)</sup>

Entre estos anticuerpos, aquellos con especificidad por las moléculas HLA de un posible donante (DSA) son de pronóstico reservado, porque aumentan el riesgo de rechazo mediado por anticuerpos y la falla del injerto renal si este donante es utilizado.<sup>(4,5)</sup>

Desde 2017 “gracias a una solución informática creada en el laboratorio de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología” (IHI)<sup>(2)</sup> el PRA se sustituyó por el cPRA (porcentaje de anticuerpos anti-HLA contra panel calculado), que refleja mejor la sensibilización con anticuerpos anti-HLA que presenta un candidato a trasplante, al tener en cuenta la frecuencia poblacional de los genes HLA y no la de un estuche comercial.<sup>(2)</sup>

Existen estudios previos sobre la frecuencia y caracterización de los anticuerpos anti-HLA en pacientes del TRDC<sup>(6)</sup> y del TRDV,<sup>(7)</sup> pero no una comparación de la alosensibilización poblacional y los valores de cPRA entre ambos programas; lo que constituye el objetivo propuesto en este trabajo.

## Métodos

Se realizó un estudio de corte transversal, después de obtener el consentimiento informado de pacientes y familiares, que comprendió las muestras de 291 candidatos a TRDC, 74 del TRDV y sus posibles donantes, recibidas desde febrero de 2017 a mayo de 2019 en el Laboratorio de Histocompatibilidad del IHI.

En los candidatos se llevó a cabo la detección y caracterización de los anticuerpos anti-HLA por tecnología xMAP de Luminex. Se utilizaron los estuches comerciales LIFECODES LifeScreen Deluxe, LIFECODES LSA CLASE I y LIFECODES LSA CLASE II. La tipificación de los genes HLA clase I (locus A y B) y clase II (DRB1 y DQB1) de los donantes del TRDC se realizó por el método PCR-SSO de biología molecular con los estuches comerciales LIFECODES HLA SSO Typing kit; todos de Immucor Transplant Diagnostics, Inc. Ambas técnicas fueron analizadas en un equipo analizador Luminex 200. El montaje de la técnica y la lectura en el equipo se realizaron siguiendo las instrucciones del fabricante.

A los pacientes del TRDV con DSA contra las moléculas HLA de alguno de sus posibles donantes se definieron como pacientes DSA positivos.

A 11 de los pacientes del TRDV y 23 del TRDC anticuerpos anti-HLA positivos, se les calculó el cPRA mediante la solución informática diseñada al efecto en el laboratorio de Histocompatibilidad del IHI. Para ello se tomaron los anticuerpos MFI  $\geq 3500$  o con menores valores de MFI, pero DSA. Uno de los pacientes del TRDV con anticuerpos anti-HLA se le calculó cPRA = 0 %, pues sus anticuerpos no cumplieron con ninguna de las dos condiciones. Los pacientes fueron colocados en 3 grupos de cPRA ( $> 0\%$  y  $< 20\%$ ,  $\geq 20\%$  y  $< 75\%$ ,  $\geq 75\%$ ). Se utilizó el programa Epidat versión 3.1 y los estadígrafos ji al cuadrado y la comparación de proporciones para el análisis estadístico. Se consideró como significativa la  $p < 0,005$ .

## Resultados

El 16,2 % de los candidatos al TRDV y el 40,5 % de los candidatos a TRDC estuvieron sensibilizado con anticuerpos anti-HLA. Existió predominio de los anticuerpos anti-HLA clase II de forma general (tabla 1).

**Tabla 1** - Frecuencia de anticuerpos anti-HLA según tipo de Programa de Trasplante Renal

Anticuerpos	TRDV (n =74)				TRDC (n =291)				p ( $\chi^2$ )	p (cp)
	POS	%	NEG	%	POS	%	NEG	%		
Anti-HLA	12	16,2	62	83,8	118	40,5	173	59,5	0,0001*	0,0002*
Anti-HLA Clase I	5	6,8	69	93,2	83	28,5	208	71,5	0,0001*	0,0002*
Anti-HLA Clase II	10	13,5	64	86,5	83	28,5	208	71,5	0,0082*	0,0126*
Anti-HLA Clase I y II	3	4,1	71	95,4	48	16,5	243	83,5	0,0058*	0,0102*

**Leyenda:** POS: positivo, NEG: negativo, TRDV: Programa Cubano de Trasplante Renal con donante vivo, TRDC: Programa Cubano de Trasplante Renal con donante cadavérico,  $\chi^2$ : ji al cuadrado, cp: comparación de proporciones, (\*):  $p < 0,005$ .

Se detectó asociación entre el tipo de Programa de Trasplante y los anticuerpos anti-HLA, con los pacientes del TRDC proporcionalmente más sensibilizados de forma general y por clases (tabla 1).

De los pacientes con anticuerpos anti-HLA, el 90,9 % del TRDV y el 87 % TRDC tuvieron un cPRA por encima del 20 %. No existió asociación entre el tipo de Programa de Trasplante y el cPRA (tabla 2).

**Tabla 2** - cPRA en pacientes con anticuerpos anti-HLA según tipo de Programa de Trasplante Renal

cPRA (%)	Pacientes con anticuerpos anti-HLA del TRDV (n=11)		Pacientes con anticuerpos anti-HLA del TRDC (n =23)		p ( $\chi^2$ )
	n	%	n	%	
0 < Y < 20	1	9,1	3	13	0,0981
20 ≤ Y < 75	8	72,7	8	34,8	
≥ 75	2	18,2	12	52,2	
<b>Total</b>	11	100	23	100	

**Leyenda:** cPRA: Porcentaje de anticuerpos anti-HLA frente a panel calculado, TRDV: Programa Cubano de Trasplante Renal con donante vivo, TRDC: Programa Cubano de Trasplante Renal con donante cadavérico, n: número de pacientes,  $\chi^2$ : chi cuadrado.

El 72,7 % de los pacientes con anticuerpos anti-HLA del TRDV tuvieron un cPRA entre el 20 y el 75 %, mientras que en el TRDC la mayor cantidad de pacientes presentó un cPRA  $\geq 75$  % (tabla 2). De los 12 pacientes con anticuerpos anti-HLA positivos del TRDV, 5 (41,6 %) tuvieron DSA.

## Discusión

Se detectó que los candidatos a TRDC tienen una alosensibilización poblacional y valores de cPRA más elevados que los del TRDV.

La alosensibilización poblacional con anticuerpos anti-HLA se espera no rebase el 30 %, <sup>(8)</sup> pero en este estudio y en el anterior en pacientes del TRDC <sup>(6)</sup> se detectaron niveles más elevados.

En esta investigación la mayor parte de los pacientes del TRDV pertenecieron al Programa de Trasplante Renal Precoz. Son pacientes con criterios para trasplante que aún no han entrado en diálisis, <sup>(7)</sup> sin trasplantes previos y sin muchas transfusiones en su mayoría, con eventos de riesgo para la aparición de anticuerpos anti-HLA. <sup>(9)</sup>

En el estudio anterior de TRDV <sup>(7)</sup> la alosensibilización con anticuerpos anti-HLA fue mayor, pero en él los pacientes del trasplante renal no precoz (con diálisis, trasplante previos y transfusiones) casi duplicaban a los de modalidad precoz. Lo que pudo haber influenciado los niveles de alosensibilización.

A diferencia de los estudios previos con predominio de anticuerpos anti-HLA clase I, <sup>(6,7)</sup> existió mayor cantidad de pacientes con anticuerpos clase II y con la combinación de clase I / II, que se asocian con mayor riesgo de pérdida del injerto renal y muerte del paciente. <sup>(10)</sup> Los anticuerpos pretrasplante anti-HLA de clase II se correlacionan además con resultados cardíacos y cerebrales desfavorables a largo plazo en pacientes renales trasplantados. <sup>(10)</sup>

La probabilidad de encontrar un donante compatible está asociada de manera inversa al cPRA; mientras más se acerca este al 100 % menor es la probabilidad.<sup>(11)</sup> Tener un PRA  $\geq$  20 % implica un riesgo elevado de no recibir un trasplante de donante cadavérico<sup>(12)</sup> y en aquellos con PRA  $\geq$  50 % el tiempo de espera por trasplante es cinco veces más elevado que en los pacientes con PRA  $\leq$  10 %.<sup>(13)</sup> El predominio de cPRA  $\geq$  75 % (hipersensibilización) en el TRDC se debe a que sus pacientes tienen eventos sensibilizantes de importancia como el trasplante previo y las politransfusiones,<sup>(3,9)</sup> que provoca un mayor tiempo de espera por donantes compatibles y riesgo de mortalidad postrasplante.<sup>(9,14)</sup>

La hipersensibilización es menos común en el TRDV pero no es inusual, pues esta modalidad posee pacientes pertenecientes al programa de trasplante renal no precoz que también tienen eventos sensibilizantes.

Los DSA pretrasplante contra HLA clase I o clase II son un factor de riesgo significativo de complicaciones en el trasplante de donante fallecido,<sup>(15,16)</sup> pero en el trasplante de donante vivo existen resultados que niegan<sup>(15)</sup> y otros que apoyan esta relación.<sup>(16)</sup>

La presencia pretrasplante renal combinada de DSA contra HLA de clase I / II en el trasplante de donante fallecido y donante vivo se asocia a riesgo incrementado de pérdida del injerto.<sup>(15)</sup>

La presencia de DSA se traduce en una prueba cruzada virtual (PCV) positiva contra un donante y estos son generalmente excluidos de la PC y como posibles donantes, pues la PCV puede predecir de forma acertada el resultado de la PC por citometría de flujo (CF) y disminuir el tiempo de isquemia fría en el trasplante con donante cadavérico.<sup>(5)</sup> Además, los pacientes con PC negativa y PCV positiva tienen una probabilidad del 55 % de rechazo agudo mediado por anticuerpos y detectado por biopsia, en el primer año, frente a una probabilidad de 5 % en el caso de PCV negativa.<sup>(17)</sup>

Se sugiere que, cuando es con donante vivo, no solo se confié para la exclusión en el resultado de la PCV y siempre se realice la PC pre-trasplante.<sup>(14)</sup>

Uno de los motivos reside que una PCV positiva no siempre se traducirá en una PC positiva.<sup>(18)</sup> En Cuba, así como en muchos otros países, la PC se realiza por CF, que es menos sensible que la tecnología xMAP de Luminex. Esta última puede detectar niveles de anticuerpos más bajos que la citometría de flujo, y de los cuales aún es desconocida la relevancia clínica para el trasplante.<sup>(11,15)</sup> No obstante, aunque una PCV de positiva por Luminex con una PC negativa por Microlinfotoxicidad dependiente de complemento y/o CF, no se considera una contradicción para el trasplante si ha demostrado que tiene riesgo inmunológico aumentado de rechazo y pérdida del injerto.<sup>(14,15)</sup> En estos casos se recomienda realizar determinadas estrategias, por ejemplo, trasplante cruzado o

desensibilización de los anticuerpos anti-HLA antes de trasplantar si se quiere proseguir con el donante.<sup>(14)</sup>

Los niveles de supervivencia en el trasplante renal con donante vivo son superiores que con donante fallecido<sup>(15)</sup> y unas de las causas pueden ser la presencia y el comportamiento de los anticuerpos anti-HLA.

## Referencias bibliográficas

1. Mármol Sónora A, Pérez Rodríguez A, Pérez de Prado Valdivia JC, Fernández-Vega García S, Gutiérrez García F, Arce Bustabad S. Programa de trasplante renal en Cuba. Rev cubana med. 2009 [acceso 23/01/2023];44:(1-2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75232009000400012&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232009000400012&nrm=iso).
2. Chang-Monteaquedo A, Marcell-Rodríguez L, Ustariz-García C, Bencomo-Hernández Al. Método cubano para determinar el porcentaje calculado de anticuerpos reactivos contra panel. Rev Cubana Hematol Inmunol. 2018 [acceso 29/12/2022];34:(4). Disponible en: <https://revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/889>.
3. Pandey P, Pande A, Mandal S, Devra AK, Sinha VK, Bhatt AP, et al. Effects of different sensitization events on HLA alloimmunization in renal transplant cases; a retrospective observation in 1066 cases. Transpl Immunol. 2022;75:101680. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trim.2022.101680>
4. Redondo-Pachón D, Pérez-Sáez MJ, Mir M, Gimeno J, Llinás L, García C, et al. Impact of persistent and cleared preformed HLA DSA on kidney transplant outcomes. Hum Immunol. 2018;79(6):424-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2018.02.014>
5. Jamshidian Tehrani N, Geramizadeh B, Malekhosseini SA, Nikeghbalian S, Bahador A, Gholami S, et al. Virtual Crossmatching in Kidney Transplantation, Shiraz Experience in Development of a Web-Based Program. Int J Organ Transplant Med. 2021 [acceso 07/03/2023];12(2):20-5. PMID: 34987737
6. Marcell Rodríguez L, Morera Barrios LM, Ustariz García CR, Costales Elizalde DT, Chang Monteaquedo A, Bencomo Hernández A. Identificación de anticuerpos anti-HLA en pacientes en espera de trasplante renal. Rev Cubana Hematol Inmunol. 2015 [acceso 07/03/2023];31:(2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892015000200005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892015000200005&lng=es)

7. Marcell-Rodríguez L. Caracterización de los anticuerpos anti-hla en receptores de trasplante renal de donante vivo relacionado. Rev Cubana Hematol Inmunol. 2017 [acceso 23/01/2023];33. Disponible en: <https://revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/759>.
8. Abbes S, Metjian A, Gray A, Martinu T, Snyder L, Chen DF, et al. Human Leukocyte Antigen Sensitization in Solid Organ Transplantation: A Primer on Terminology, Testing, and Clinical Significance for the Apheresis Practitioner. Ther Apher Dial. 2017;21(5):441-50. DOI: <https://doi.org/10.1111/1744-9987.12570>
9. Sahin GK, Usta S, Erdogmus S, Ors Sendogan D, Kutlay S, Erturk S, et al. Characteristics and Sensitization Risk Factors in Kidney Transplant Wait List Candidates: Panel Reactive Antibodies Status Is Crucial for Successful Kidney Allocation Systems in Turkey. Exp Clin Transplant. 2021;10(4):1-7. DOI: <https://doi.org/10.6002/ect.2020.0304>
10. Malfait T, Emonds M-P, Daniëls L, Nagler EV, Van Biesen W, Van Laecke S. HLA Class II Antibodies at the Time of Kidney Transplantation and Cardiovascular Outcome: A Retrospective Cohort Study. Transplantation. 2020;104(4):823-34. DOI: <https://doi.org/10.1097/tp.0000000000002889>
11. Tafulo S, Malheiro J, Dias L, Almeida M, Martins S, Pedroso S, et al. Eplet-based virtual PRA increases transplant probability in highly-sensitized patients. Transpl Immunol. 2021;65:101362. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trim.2021.101362>
12. Bostock IC, Alberú J, Arvizu A, Hernández-Mendez EA, De-Santiago A, González-Tableros N, et al. Probability of deceased donor kidney transplantation based on % PRA. Transpl Immunol. 2013;28(4):154-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trim.2013.05.002>
13. Morales JM, Gutiérrez MJ, González E. Trasplante renal en el paciente hiperinmunizado. Bulletin Trasplantament. 2006 [acceso 07/03/2023];32:6-9. Disponible en: [https://sctransplant.org/doc/boletin/boletin\\_32\\_cast.pdf](https://sctransplant.org/doc/boletin/boletin_32_cast.pdf)
14. Frutos MÁ, Crespo M, Valentín MdIO, Alonso-Melgar Á, Alonso J, Fernández C, et al. Recomendaciones para el trasplante renal de donante vivo. Nefrología. 2022;42:1-128. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2021.10.002>
15. Kamburova EG, Wisse BW, Joosten I, Allebes WA, van der Meer A, Hilbrands LB, et al. Differential effects of donor-specific HLA antibodies in living versus deceased donor transplant. Am J Transplant. 2018;18(9):2274-84. DOI: <https://doi.org/10.1111/ajt.14709>



16. Ziemann M, Altermann W, Angert K, Arns W, Bachmann A, Bakchoul T, et al. Preformed Donor-Specific HLA Antibodies in Living and Deceased Donor Transplantation: A Multicenter Study. Clin J Am Soc Nephrol. 2019;14(7):1056-66. DOI: <https://doi.org/10.2215/cjn.13401118>
17. Ercilla MG, Martorell J. Estudio inmunológico de la pareja donante-receptor. Nefrología. 2010;30(S2):60-70. DOI: <https://doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2010.Nov.10692>
18. Morris AB, Sullivan HC, Krummey SM, Gebel HM, Bray RA. Out with the old, in with the new: Virtual versus physical crossmatching in the modern era. HLA. 2019;94(6):471-81-DOI: <https://doi.org/0.1111/tan.13693>

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

### **Contribución de los autores**

*Conceptualización:* Lelyem Marcell Rodríguez.

*Curación de datos:* Lelyem Marcell Rodríguez, Arturo Chang Monteagudo.

*Análisis formal:* Lelyem Marcell Rodríguez, Arturo Chang Monteagudo.

*Investigación:* Lelyem Marcell Rodríguez.

*Metodología:* Lelyem Marcell Rodríguez, Arturo Chang Monteagudo.

*Redacción-del borrador original:* Lelyem Marcell Rodríguez.

*Redacción-revisión y edición:* Lelyem Marcell Rodríguez, Arturo Chang Monteagudo.