



**COMITÉ DE EDUCACIÓN CONTINUA Y CONTINUADA
COORDINADORA: DRA CELINA MONTEMAYOR**

**PROGRAMA CONSULTA AL EXPERTO
COORDINADORA: DRA GRACIELA LEÓN DE GONZÁLEZ**

**IMPORTANCIA DEL SISTEMA HLA EN MEDICINA
TRANSFUSIONAL**

PROFESORA INVITADA: CARMEN CANALS SURÍS
Licenciada en Ciencias Biológicas y en Medicina y Cirugía de la Universidad de Barcelona. Especialización en Hematología y Hemoterapia Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, Barcelona. Responsable del Laboratorio de Serología Plaquetaria y Granulocitaria, Laboratorio de Inmunohematología. Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España ccanals@bst.cat

Primera parte: el sistema HLA y la aloinmunización HLA

Fue hace más de 60 años, en 1958, cuando por primera vez se describieron en el suero de pacientes politransfundidos y de mujeres multíparas anticuerpos que reaccionaban con los leucocitos de algunos individuos. Estos anticuerpos detectaban un sistema antigénico polimórfico en los leucocitos humanos, el sistema HLA. Se reconoció muy pronto su relevancia en histocompatibilidad, por lo que fue denominado Complejo Mayor de Histocompatibilidad, en analogía a los complejos de otras especies. Sin embargo, su función biológica esencial radica en iniciar la respuesta inmune adaptativa. La rápida evolución en el conocimiento del sistema HLA desde entonces es un ejemplo de como la colaboración internacional ha permitido lograr enormes avances científicos. Los hechos más relevantes en la evolución del conocimiento del sistema HLA son expuestos magistralmente por E. Thorsby, en su publicación “A short history of HLA”, revisión cuya lectura no pueden perderse todos aquellos aficionados a la historia de la medicina (1).

Como se muestra en la imagen (de NCI Visuals Online - National Cancer Institute), los genes del sistema HLA están localizados, muy próximos unos de otros, en el brazo corto del cromosoma 6 (Figura 1). Estos genes codifican para moléculas de la membrana celular altamente polimórficas, que se expresan de forma codominante. En base a sus características moleculares y funcionales, se han descrito dos tipos principales de moléculas HLA: HLA de clase I, que incluye los clásicos HLA-A, -B y -C, y HLA de clase II, que incluye los clásicos HLA-DR, -DQ y -DP. La herencia de los genes sigue los principios de Mendel; generalmente se hereda en bloque un haplotipo con los genes HLA-A, B, C, DR y DQ, aunque puede existir recombinación.

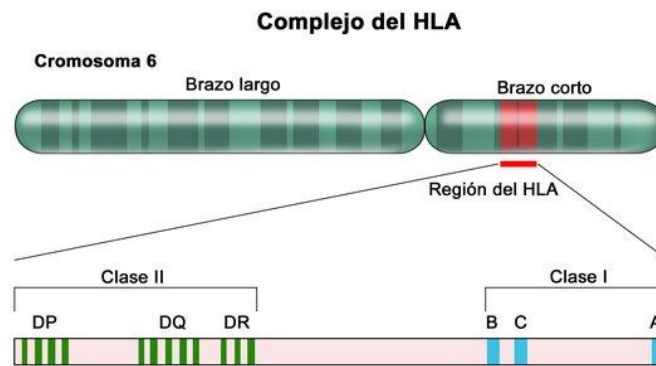
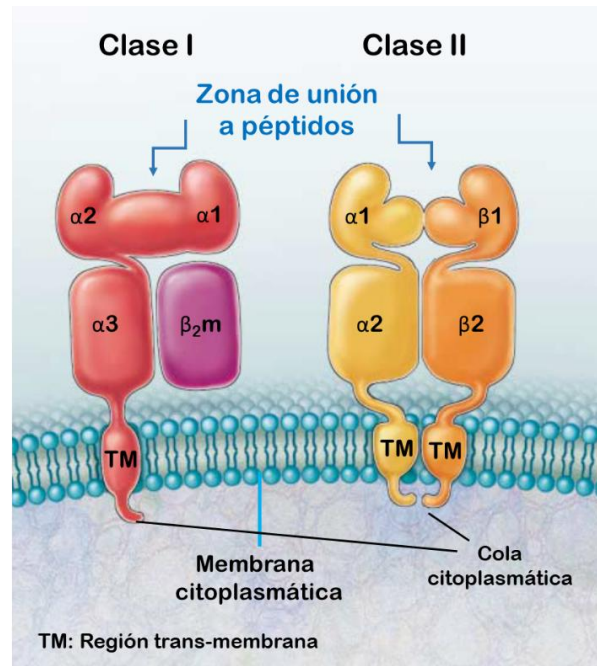


Figura 1. Localización de los genes del sistema HLA.

Las moléculas HLA están formadas por dos glicoproteínas unidas entre sí, que se organizan en dominios del mismo modo que las inmunoglobulinas. Las moléculas HLA de clase I constan de una cadena constante, la beta-2 microglobulina, y una cadena polimórfica con 3 dominios. Los dominios alfa-1 y alfa-2 se pliegan de forma que entre ellos se acomodan péptidos que proceden del citoplasma. Las moléculas HLA de clase I tienen la función de presentar péptidos citosólicos a los linfocitos TCD8+, encargados de destruir las células infectadas por virus.

Las moléculas HLA de clase II poseen dos cadenas polimórficas, α y β , muy similares en tamaño, con dos dominios cada una: $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ y $\beta 2$. Las moléculas HLA de clase II tienen la función de presentar péptidos de las vesículas fagocíticas a los linfocitos TCD4+, encargados de iniciar una respuesta inmune frente a los diferentes patógenos. En la figura 2 pueden ver un esquema de la estructura de las moléculas HLA:



Modificada de "The HLA SYSTEM. First of Two Parts" J Klein & A Sato. NEJM.

Figura 2. Estructura de las moléculas HLA de clase I y de clase II.

Las moléculas HLA de clase I se expresan en la mayoría de células somáticas, variando el nivel de expresión en diferentes tejidos; así mismo, se expresan en las células nucleadas de la sangre, incluyendo linfocitos T y B y granulocitos, y en las plaquetas. En algunos casos, los hematíes expresan débilmente moléculas HLA de clase I (antígenos Bg). Las moléculas HLA de clase II se expresan en un subgrupo de células inmunes: linfocitos B, linfocitos T activados, monocitos y células dendríticas; pueden detectarse en fibroblastos y células endoteliales en situaciones de activación por citoquinas inflamatorias.

Como ya hemos indicado antes, el sistema HLA es altamente polimórfico. Se han descrito miles de alelos diferentes para los diferentes locus del sistema, siendo el más polimórfico en el genoma humano. En la base de datos "IPD-IMGT/HLA Database" (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>) se recoge toda la información de los alelos que se van describiendo. Como ejemplo, en la tabla 1 les muestro los resultados obtenidos en una consulta realizada en esta base de datos en Mayo de 2021

HLA Class I				HLA Class II								
Gene	A	B	C	Gene	DRB	DQA1	DQA2	DQB1	DPA1	DPA2	DPB1	DPB2
Alleles	6,766	7,967	6,621	Alleles	3,701	306	40	1,997	258	5	1,749	6
Proteins	4,064	4,962	3,831	Proteins	2,557	143	11	1,303	107	0	1,106	0

Tabla 1. Alelos descritos para HLA-A, B, C, DR, DQ y DP en mayo de 2021. Existen más alelos que especificidades HLA, ya que el polimorfismo en el DNA no implica siempre un cambio en la secuencia de aminoácidos de la proteína.

Las técnicas empleadas en la tipificación HLA han evolucionado mucho. Las técnicas serológicas, que estudian el fenotipo celular mediante la utilización de anticuerpos, fueron desplazadas ya hace más de 20 años por técnicas de biología molecular, basadas en el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con grados de resolución variables (baja, intermedia o alta). La tipificación por baja resolución determina el grupo alélico (equivalente a la tipificación serológica), mientras que por alta resolución se determina el alelo concreto, siendo la información mas detallada a mayor alcance de la resolución de la técnica utilizada (figura 3). Actualmente muchos laboratorios estudian el HLA mediante secuenciación, usando la metodología NGS (*Next Generation Sequencing*).

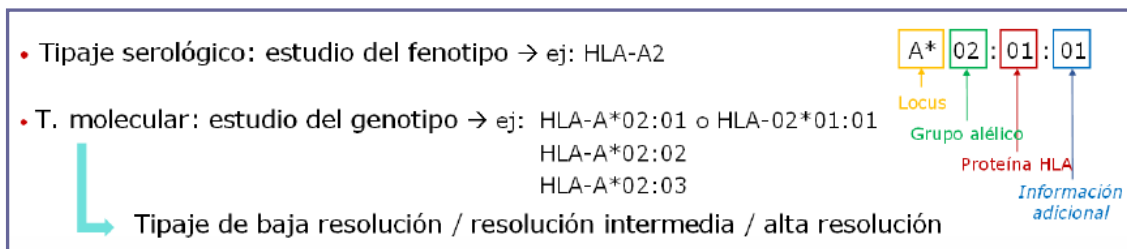


Figura 3. Ejemplo de nomenclatura HLA

A nivel serológico, algunas especificidades tienen en común secuencias de aminoácidos y conformaciones moleculares, que dan lugar a epítomos antigénicos. Algunos anticuerpos pueden reaccionar con dos o más de estos epítomos, lo que comporta la existencia de los denominados grupos de reacción cruzada (CREG, cross-reacting group).

Causas de aloinmunización frente antígenos HLA

Los linfocitos T se mantienen tolerantes a las moléculas HLA propias, que encuentran en el timo, pero cuando se enfrentan a moléculas HLA ajenas, correspondientes a otros alelos, son capaces de producir una respuesta intensa que se conoce como alorespuesta. Cuando las moléculas HLA actúan como “antígenos” pueden ser reconocidas por los linfocitos T de forma directa o de forma indirecta. Es decir, el receptor T puede reconocer directamente las moléculas HLA ajenas como péptidos extraños, o de forma indirecta, a través de la presentación de péptidos por las células presentadoras de antígenos.

¿En qué situaciones ocurre una exposición a antígenos HLA ajenos? Esta circunstancia ocurre fundamentalmente en 3 situaciones:

1. En pacientes que reciben transfusiones de sangre
2. En mujeres gestantes, que reconocen como ajenos los antígenos HLA de origen paterno presentes en el feto
3. En pacientes sometidos a trasplantes de órganos y tejidos

Referente a la transfusión como causa de aloinmunización sabemos que los diferentes componentes sanguíneos, hematíes, plaquetas y plasma, pueden inducir la producción de anticuerpos anti-HLA en el receptor (2). Los hematíes presentan un nivel de expresión muy débil de Ags HLA de clase I, de 40-500 moléculas HLA/hematíe. Las

plaquetas expresan antígenos HLA de clase I, fundamentalmente HLA-A y HLA-B (50.000-150.000 moléculas/célula). El plasma contiene moléculas de HLA soluble, pero su posible papel como evento inmunizante ha sido poco estudiado. Los leucocitos “residuales” en los concentrados de hematíes y plaquetas son la causa fundamental de la aloinmunización en los receptores, ya que los leucocitos poseen más de 250.000 moléculas de HLA/célula. En este sentido, la leucorreducción universal conllevó una disminución de la incidencia de aloinmunización HLA, que en algunos grupos de pacientes politransfundidos tenía lugar en más del 40% de casos.

A pesar de la leucorreducción, existen grupos de pacientes que por su patología de base continúan presentando un riesgo elevado de aloinmunización HLA por transfusión. En una serie de 73 pacientes pediátricos con anemia falciforme (3), a pesar de recibir hematíes leucorreducidos, en el 34% de pacientes se detectaron anticuerpos anti-HLA de clase I. Este porcentaje era superior, llegando a alcanzar el 50%, en pacientes que presentaban también anticuerpos irregulares.

La aloinmunización frente a los antígenos HLA fetales heredados del padre ocurre en más del 30% de gestaciones, siendo superior en múltiparas. Os muestro como ejemplo, una tabla de un trabajo en el que se estudiaron más de 900 mujeres donantes de plaquetas (4). Las mujeres que tenían un embarazo previo, 31% tenían anticuerpos anti-HLA vs un 4% en mujeres nulíparas. En múltiparas, este porcentaje alcanzaba el 33% y llegaba a 40% en las que habían tenido hijos de diferentes padres.

Donor group	HLA antibodies	No HLA antibodies	p value†
Females (n = 941)			
Parous (n = 619)	192 (31.0)	427 (67.0)	p < 0.0001
Nulliparous (n = 322)	13 (4.0)	309 (96.0)	
Nulliparous females‡ (n = 322)			
Transfused (n = 12)	0 (0.0)	12 (100.0)	p = 1
Nontransfused (n = 310)	13 (4.2)	297 (95.8)	
Parous females§ (n = 619)			
Transfused (n = 106)	38 (35.8)	68 (64.2)	p = 0.2497
Nontransfused (n = 513)	154 (30.0)	359 (70.0)	
Multiparous females (n = 486)			
Pregnancies from more than one biologic father (n = 20) (mean number of pregnancies, 2.75)	8 (40.0)	12 (60.0)	p = 0.62
Pregnancies from one biologic father (n = 446) (mean number of pregnancies, 2.77)	148 (33.2)	298 (66.8)	
Parous and transfused females (n = 104)			
Pregnancy and transfusion in the same year (n = 65)	26 (40.0)	39 (60.0)	p = 0.291
Pregnancy and transfusion not in the same year (n = 39)	11 (28.2)	28 (71.8)	

Tabla 2. Prevalencia de anticuerpos anti-HLA en función de la historia obstétrica

En cuanto al trasplante de órganos y tejidos, el grado de compatibilidad HLA entre donante y receptor, así como la inmunosupresión del receptor, son esenciales para evitar un rechazo del injerto. El grado de compatibilidad exigido es variable según el tipo de trasplante (renal, hepático, etc...).

En el trasplante de progenitores hematopoyéticos (PH) el grado de compatibilidad es crítico, ya que puede existir tanto rechazo del injerto como inmuno-respuesta del injerto frente el receptor (enfermedad injerto contra huésped). La presencia en el paciente de anticuerpos anti-HLA específicos frente a antígenos del donante de PH (*DSA-donor specific antigens*) es una de las causas de rechazo del injerto. Exceptuando los casos en que el donante sea un familiar HLA idéntico, antes de proceder un trasplante alogénico de PH debe investigarse siempre en el paciente la presencia de anticuerpos DSA. Esto es particularmente relevante si se plantea un donante haploidéntico. Se están valorando en la actualidad diversas estrategias de cómo manejar los pacientes que presentan anticuerpos DSA (5).

Métodos de estudio de anticuerpos frente antígenos HLA

Para investigar la presencia de anticuerpos anti-HLA circulantes, en suero o plasma, existen múltiples ensayos. La técnica clásica, aún utilizada en los laboratorios de histocompatibilidad para pruebas cruzadas en el trasplante renal, se basaba en la prueba de microlinfocitotoxicidad dependiente de complemento (CDC). Enfrentando el suero del paciente a un panel de linfocitos representativo de la población general (30 a 50 donantes), se calculaba el porcentaje de donantes frente a los que el suero reaccionaba. El resultado se expresaba como *Panel Reactive Activity* (PRA). En la figura 4 se muestra un esquema de esta técnica clásica, que detecta anticuerpos fijadores de complemento:

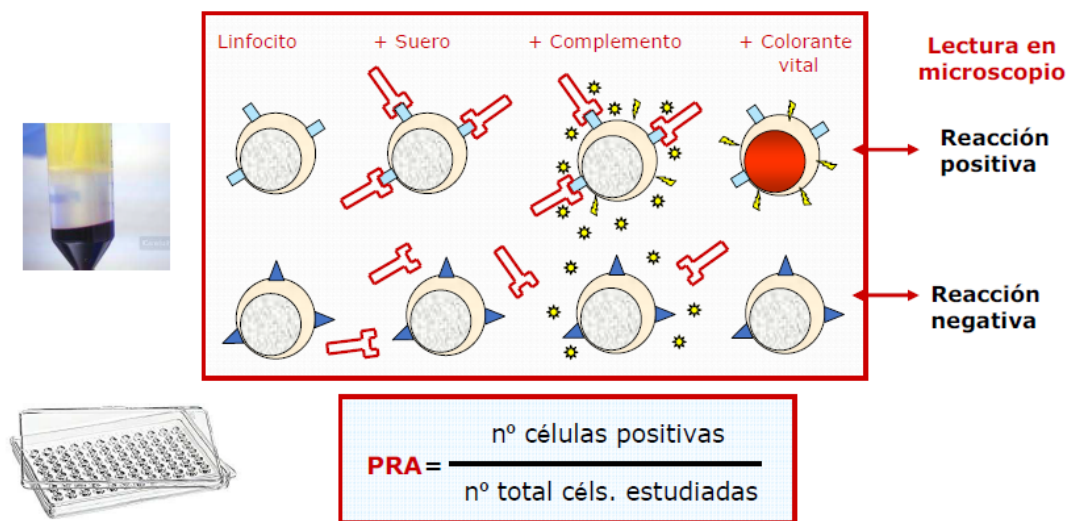


Figura 4. Esquema de la técnica de Microlinfocitotoxicidad

Otras técnicas que habían sido ampliamente utilizadas se basaban en citometría de flujo, frente a linfocitos T CD3+ para HLA de clase I y linfocitos B CD19+ para HLA de clase II, o en ensayos inmunoenzimáticos (ELISA). Actualmente, las técnicas más empleadas para el estudio de anticuerpos anti-HLA son las basadas en la tecnología xMAP® (Luminex), que aportan una gran sensibilidad (6).

Como se muestra en la figura 5, se emplea una suspensión de microesferas (*beads*), identificables por su color (fluorocromos), que llevan adheridas en su superficie moléculas HLA. Los anticuerpos se fijan a la molécula HLA correspondiente y se detectan mediante una antiglobulina, marcada con ficoeritrina. Los resultados, expresados como MFI (Mean Fluorescence Intensity), son indicativos de la concentración (título) de anticuerpos presentes.

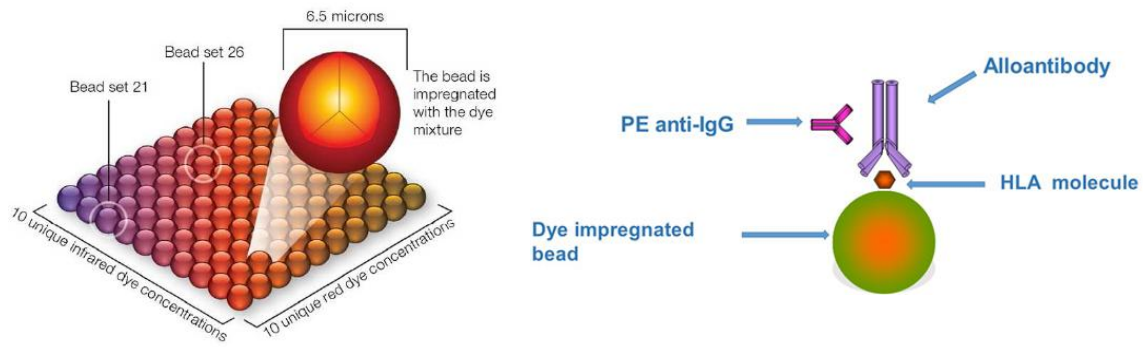


Figura 5. Investigación de anticuerpos anti-HLA mediante tecnología Luminex

Existen kits de Luminex para realizar un escrutinio de anticuerpos anti-HLA, que incluyen algunas *beads* con pools de antígenos de clase I y otras *beads* con pools de antígenos de clase II.

Se dispone de otros kits (Single Antigen bead assay) que permiten la identificación de los anticuerpos, de clase I o de clase II. En estos kits, cada una de las *beads* tiene en su superficie un único antígeno, de manera que podemos determinar frente a qué antígenos HLA está sensibilizado el paciente.

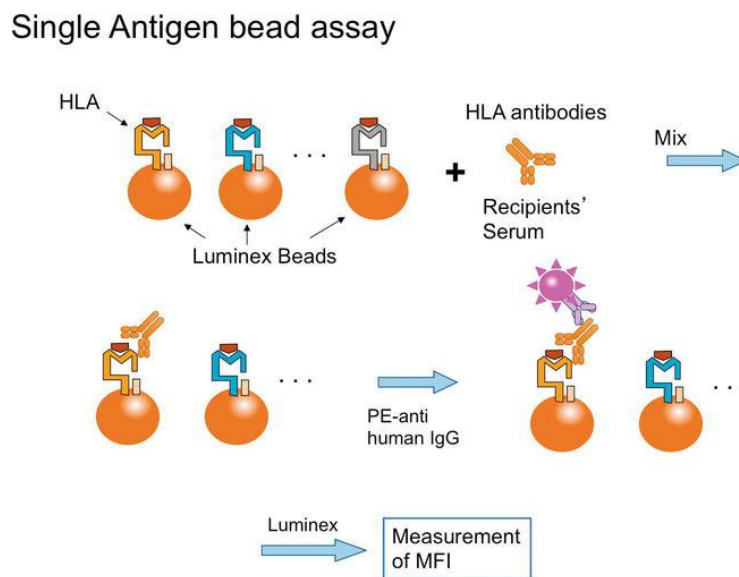


Figura 6. En los kits de Luminex para la identificación de anticuerpos anti-HLA, cada una de las *beads* tiene en su superficie un único antígeno (Ejemplo A1, A2, A3,...)

A modo de ejemplo, en la figura 7 se muestra un gráfico donde se puede observar la intensidad de fluorescencia (MFI) obtenida para cada uno de los antígenos, en orden de mayor a menor intensidad de fluorescencia. Se han utilizado diferentes puntos de corte para asignar un resultado positivo o negativo a cada una de las *beads*. El más utilizado hasta la actualidad ha sido una $MFI > 1.500$.

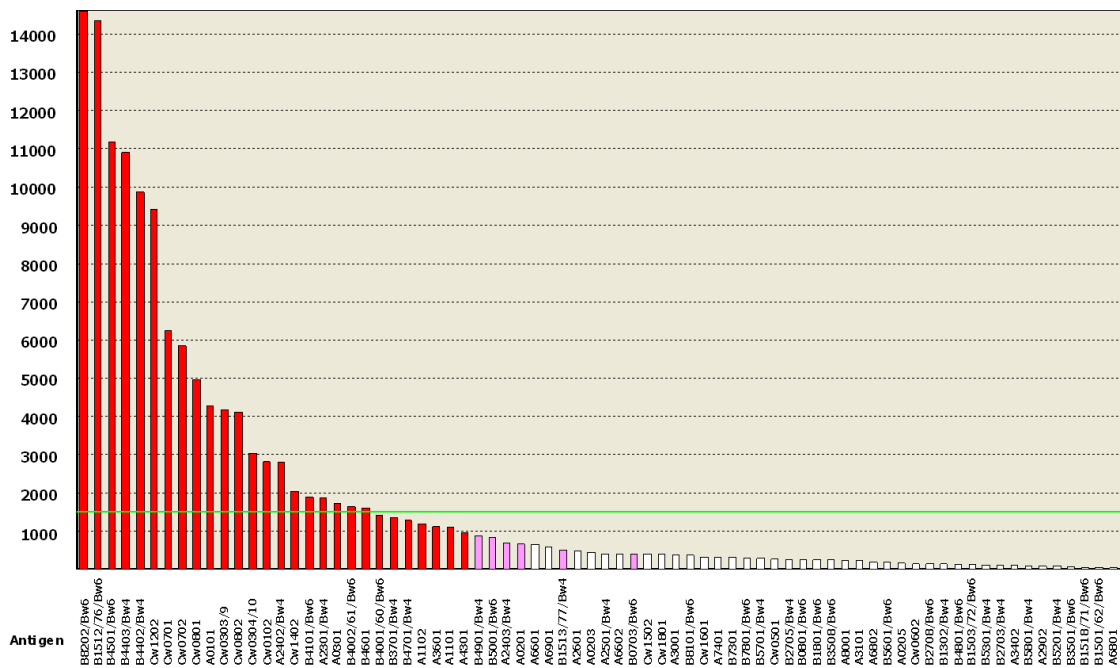


Figura 7. MFI obtenida para cada una de las beads (Single Antigen Bead Assay).

El software de Luminex puede generar diferentes tipos de informes. Un ejemplo de tipo de informe muy utilizado se muestra a continuación (tabla 3):

Bead	Raw Value	BCM	BCR	AD-BCR	Assignment	A	B
103	14915	14661	72.22	82.44	Positive	A*01:01	
119	12928	12682	62.47	69.49	Positive	A*30:01	
120	11648	11404	56.17	74.70	Positive	A*31:01	
143	8832	8616	44.88	40.68	Positive		B*15:12
140	7853	7608	39.62	34.37	Positive		B*15:01
109	7666	7429	36.60	37.30	Positive	A*03:01	
162	6635	6412	33.40	35.19	Positive		B*45:01
113	6619	6394	31.50	31.37	Positive	A*24:02	
160	6434	6217	32.38	32.16	Positive		B*44:02
112	6184	5973	29.42	29.36	Positive	A*23:01	
161	6117	5856	30.50	30.59	Positive		B*44:03
110	5191	5003	24.65	23.95	Positive	A*11:01	
125	5135	4837	23.83	22.50	Positive	A*36:01	
167	4730	4516	23.52	22.09	Positive		B*50:01
111	4649	4416	21.75	22.29	Positive	A*11:02	
166	4310	4102	21.36	19.09	Positive		B*49:01
115	4212	4021	19.81	19.08	Positive	A*25:01	
127	3948	3741	18.43	18.73	Positive	A*66:01	
133	3792	3590	17.68	20.21	Positive	A*80:01	
136	3640	3400	17.71	15.75	Positive		B*08:01
116	3560	3349	16.50	18.25	Positive	A*26:01	
118	3304	3049	15.02	15.50	Positive	A*29:02	
181	3301	3039	15.83	16.17	Positive		B*62:02
141	2258	2032	10.58	10.83	Positive		B*15:02
124	2226	1985	9.78	10.54	Positive	A*34:02	
142	2101	1863	9.70	9.53	Positive		B*15:03
182	2139	1848	6.77	9.59	Positive		
123	1753	1514	7.46	8.51	Positive	A*33:03	
122	1724	1499	7.38	8.33	Positive	A*33:01	
144	1648	1422	7.41	7.27	Positive		B*15:13
126	1639	1386	6.83	8.20	Positive	A*43:01	
145	1629	1376	7.17	6.75	Positive		B*15:16
128	1498	1314	6.47	6.76	Negative	A*66:02	
147	1452	1240	6.46	5.59	Negative		B*18:01
173	1420	1215	6.33	6.32	Negative		B*56:01
117	1414	1182	5.82	6.84	Negative	A*29:01	
149	1123	886	4.61	4.47	Negative		B*27:05
176	1040	808	4.21	4.50	Negative		B*59:01
174	1006	804	4.18	3.99	Negative		B*57:01

Tabla 3. Ejemplo de informe de los resultados obtenidos con un kit de identificación de anticuerpos anti-HLA de clase I (Class I Single Antigen Bead Assay).

La 1ª columna indica el nº de bead y en la 2ª columna tenemos el Raw Value, que es la MFI, para cada bead.

En las columnas de la derecha se indica el antígeno presente en cada una de las beads.

En el ejemplo mostrado en la tabla 3, se detectan en el suero estudiado anticuerpos frente a diversas especificidades, siendo los anticuerpos más potentes los dirigidos frente a los antígenos A1, A30 y A31. Los anticuerpos frente a A34, A33 y A43 presentan una reactividad débil (MFI <2.500), por lo que se considera que tienen una menor significación clínica.

Los Kits de Luminex detectan anticuerpos presentes en el suero, con independencia de si éstos son fijadores o no de complemento. Se dispone también de reactivos para la detección mediante Luminex de anticuerpos fijadores de complemento, que en algunos casos se consideran de mayor relevancia clínica (7).

Segunda parte: anticuerpos anti-HLA y transfusión

La presencia de anticuerpos anti-HLA en el receptor o en el plasma del componente transfundido explica algunas de las complicaciones de la transfusión (8). Revisaremos a continuación algunas de las más frecuentes.

Interferencias en la investigación de anticuerpos irregulares

Los anticuerpos anti-HLA, que tan frecuentemente encontramos en sueros de gestantes o de algunos pacientes politransfundidos, pueden interferir en ocasiones con la identificación de anticuerpos irregulares. Los sueros con anticuerpos anti-HLA de clase I pueden reaccionar con algunos hematíes-reactivo, células de escrutinio o células de los paneles de identificación. Afortunadamente esto ocurre en muy pocas ocasiones, ya que la densidad de moléculas HLA en hematíes es baja. Sin embargo, en algunos individuos esta expresión es mayor. En la tabla 4, de la revisión de Christof Weinstock (2), se detallan los antígenos HLA que pueden presentar mayor expresión en hematíes:

Bg antigen	Correlation with	Cross-reacting with	CREG [83]
Bg ^a	B7	B8, 13, 22 (54, 55, 56), 27, 40 (60, 61), 41, 42, 47, 48, 59, 67, 81, 82	7C
Bg ^b	B18	B8, 14 (64, 65), 16 (38, 39), 59, 67	8C
Bg ^c	A28 (A68, A69)	A2, 9 (23, 24), B17 (57, 58)	2C

CREG, cross-reactive group; HLA, human leucocyte antigen.

Tabla 4. Expresión de antígenos HLA en hematíes (antígenos Bg). Asociación entre los antígenos Bg y las especificidades HLA y sus antígenos del grupo CREG.

Fueron descritos inicialmente como antígenos Bennett-Goodspeed (Bg) y se fue conociendo su correlación con diferentes antígenos HLA. La presencia de antígenos “Bg” en los hematíes reactivo causa hemaglutinaciones débiles en fase de Coombs, que pueden entorpecer las investigaciones para identificar anticuerpos irregulares. En la selección de unidades para la confección de hematíes reactivo se evitan, en lo posible, aquellos que expresen antígenos HLA.

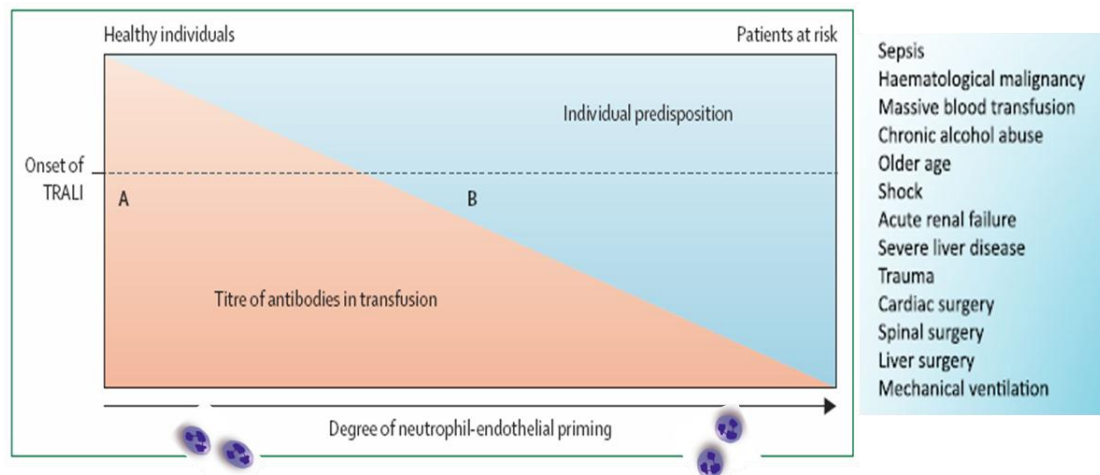
Reacciones transfusionales

Una de las reacciones post-transfusionales más frecuentes, la **reacción febril no-hemolítica**, puede estar desencadenada por anticuerpos anti-HLA en el receptor. El paciente presenta fiebre y/o escalofríos, 30 a 60 minutos después de la transfusión. Esta reacción puede deberse a anticuerpos HLA, que reaccionan con los leucocitos del componente transfundido e inducen una liberación de citoquinas pirogénicas. Se detectan anticuerpos anti-HLA en más del 50% de los casos estudiados. La leucorreducción disminuyó mucho la incidencia de estas reacciones, pero continúan siendo una de las reacciones transfusionales más frecuentes (0,01-0,05%).

Los anticuerpos anti-HLA normalmente no producen hemólisis de los hematíes transfundidos, ya que éstos no suelen expresar antígenos HLA y los antígenos solubles presentes en plasma son capaces de neutralizar los anticuerpos presentes. Sin embargo, muy excepcionalmente, en casos de hematíes con elevada densidad antigénica y anticuerpos anti-HLA potentes en el suero del paciente, los anticuerpos anti-HLA de clase I pueden explicar una reacción febril hemolítica. Se han descrito casos de **reacciones hemolíticas agudas o retardadas**, que eran atribuibles a anticuerpos anti-HLA. Como ejemplo, les comento un caso reportado por Kaaron Benson (9), en que se describe una paciente que presentó una reacción hemolítica retardada; al ser de nuevo transfundida, la paciente presentó una reacción hemolítica aguda. Los estudios serológicos realizados a posteriori, demostraron la implicación de anticuerpos frente al antígeno HLA A2.

Una complicación muy infrecuente, pero potencialmente muy grave de la transfusión, es la **Lesión Pulmonar Aguda Asociada a Transfusión LPA-AT o TRALI** (*transfusion-related acute lung injury*). Se trata de un cuadro de edema de pulmón, de inicio agudo, que aparece a las pocas horas de una transfusión, y no está producido por sobrecarga circulatoria u otra causa desencadenante. Debe plantearse siempre un diagnóstico diferencial con otras posibles causas de edema pulmonar (10). El diagnóstico diferencial no siempre es fácil y hay que tener presente que el cuadro clínico puede ser siempre multifactorial. Se han descrito factores clínicos que suponen para los pacientes una mayor susceptibilidad a presentar un TRALI. Los más importantes se presentan en el listado de la figura 8, donde mostramos también un modelo utilizado para explicar las diferentes situaciones en que puede desencadenarse o no la clínica respiratoria propia del TRALI (modelo del “umbral”). En los pacientes con varios factores de riesgo, el TRALI puede desencadenarse por la transfusión de una pequeña cantidad de anticuerpos (poco volumen de plasma o anticuerpos de bajo título); por el contrario, en un paciente sin factores de riesgo, el cuadro se desencadenará únicamente si es transfundido con una elevada cantidad de anticuerpos anti-HLA.

“Thershold Model”



Alexander P Vlaar. TRALI: a clinical review. Lancet. 2013

Figura 8. Modelo del “umbral” para explicar la fisiopatología del TRALI

Esta reacción transfusional puede desencadenarse por la transfusión de anticuerpos anti-HLA de clase I y/o de clase II, dirigidos específicamente frente a antígenos del receptor. Así mismo, puede desencadenarse por anticuerpos anti-granulocitarios.

En el año 2016 revisamos nuestra experiencia en los estudios de TRALI realizados en el Laboratorio de Inmunohematología del BST en un período de 5 años. Habíamos recibido para estudio un total de 75 casos de sospecha de TRALI; una revisión clínica más detallada de los pacientes nos llevó a excluir 22 casos. En los 53 estudios finalmente incluidos, que cumplían criterios de TRALI o posible TRALI, se habían transfundido 165 componentes, que correspondían a 243 donantes. En esta serie, encontramos anticuerpos en 21 donantes, 18 mujeres y 3 varones. Lo más frecuente fue el hallazgo de anticuerpos anti-HLA de clase II (n=11) seguido de anticuerpos anti-HLA de clase I (n=4). En 3 casos se detectaron anticuerpos frente a clase I y clase II en el mismo donante, y en 3 casos encontramos anticuerpos anti-granulocitarios. Todos los donantes positivos deben ser excluidos de la donación.

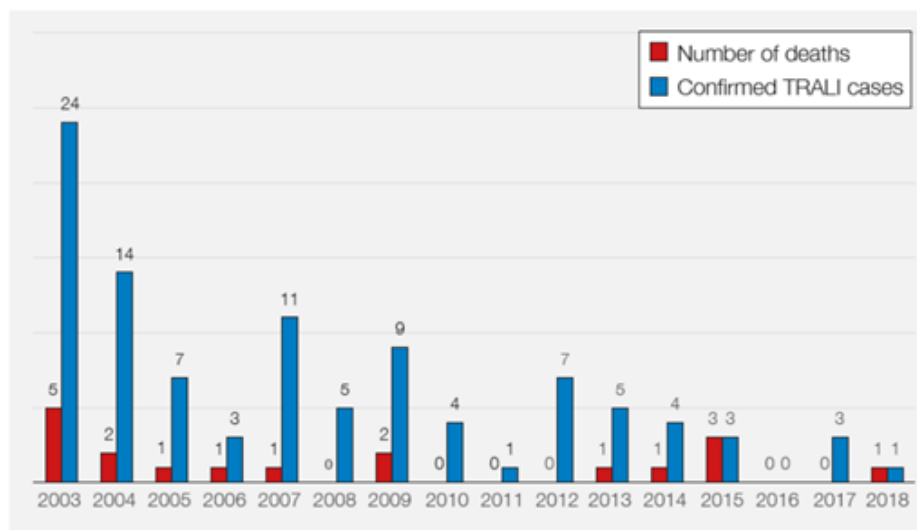


Figura 9. Evolución de casos de TRALI en Inglaterra de 2003 a 2018.

Las estrategias adoptadas para reducir la incidencia de TRALI, como la no transfusión de plasma de donantes mujeres, han resultado eficaces, según muestran los informes anuales de hemovigilancia. En España esta recomendación fue difundida por el ministerio en el año 2011. En Inglaterra esta medida se implementó en el año 2003. En la figura 9 se muestra la evolución del número de casos de TRALI de 2003 a 2018, recogidos por el informe del SHOT (*Serious Hazards of Transfusion*) de 2018.

Refractariedad plaquetar

Como ya hemos visto, las plaquetas expresan antígenos HLA de clase I, fundamentalmente HLA A y B, por lo que algunos pacientes con anticuerpos frente a estos antígenos pueden presentar una refractariedad a las transfusiones de plaquetas.

La refractariedad plaquetar se presenta en un 5 a 15% de pacientes hematológicos. Se han descrito múltiples causas que la pueden producir, muchas de ellas no inmunes. Entre las causas inmunes, la más frecuente es la presencia en el paciente de anticuerpos anti-HLA de clase I. Los antígenos HLA de clase I, expresados en la membrana plaquetar, son reconocidos por los anticuerpos y las plaquetas son rápidamente eliminadas de la circulación por diversos mecanismos, fundamentalmente a nivel esplénico (11).

Ante la sospecha de una posible refractariedad plaquetar, debemos transfundir al paciente de forma óptima (con plaquetas isogrupo ABO, revisando que la dosis sea correcta, y a ser posible con plaquetas de 48 o 72 horas) y monitorizar la respuesta a la hora de la transfusión o al día siguiente (18-20 horas). Para valorar el rendimiento disponemos de varias fórmulas que han sido utilizadas, como el CCI (*corrected count increment*) y el porcentaje de recuperación (PR). El incremento postransfusional va a depender, entre otros factores, del número de plaquetas transfundidas y de la superficie corporal o de la volemia del paciente. Las ecuaciones empleadas son las siguientes:

$$\text{CCI} = \frac{\text{Superficie corporal (m}^2\text{)* x incremento observado (plaquetas/\mu\text{l}) x } 10^{11}}{\text{Número de plaquetas transfundidas}}$$

$$\text{PR} = 100 \times \frac{\text{Volemia (ml)** x } 1000 \times \text{incremento observado (plaquetas/\mu\text{l})}}{\text{Número de plaquetas transfundidas x } 0.62}$$

*Superficie corporal (m²)= 0.72% del producto del peso (Kg) por la altura (cm)

**Volemia (ml)= 7% del peso corporal en gramos

Después de una transfusión de plaquetas en condiciones óptimas, un rendimiento satisfactorio sería alcanzar un CCI >7.500 o un PR >30% una hora después, o un CCI >4.500 o un PR >20% al día siguiente (12). Para el cálculo de estos dos índices se requiere conocer la dosis de plaquetas transfundidas, dato que no siempre está disponible. Como alternativa, se utiliza el incremento post-transfusional observado, que es un parámetro sencillo y rápido de calcular. A la práctica, nosotros consideramos una respuesta satisfactoria si el incremento post-transfusional es >10.000 a la hora o >5.000 a las 18-20 horas. Si a pesar de transfundir de forma óptima, el incremento es inferior a estos valores, consideramos indicado realizar un estudio de refractariedad, en el que investigamos la presencia de anticuerpos anti HLA y de anticuerpos anti-plaquetares.

También aconsejamos valorar las características del paciente, si se trata de una mujer con antecedentes de gestación, si es un paciente politransfundido, etc... Los resultados obtenidos en el laboratorio dependerán obviamente de los criterios que adopten los centros que envían los estudios. En nuestra experiencia, en una serie de 426 pacientes estudiados por refractariedad en el período de 2006 a 2015, detectamos anticuerpos en un 45% de los estudios. Los resultados obtenidos en esta serie de pacientes se resumen en la figura 10.

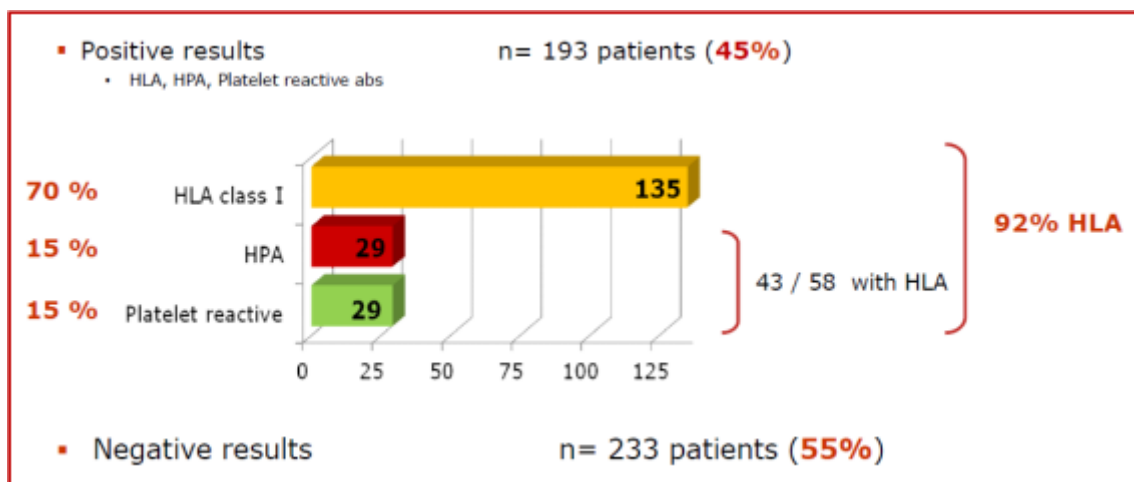


Figura 10. Resultados obtenidos en una serie de 426 pacientes con refractariedad plaquetar, estudiados en el Laboratorio de Inmunohematología-BST, entre 2006 y 2015.

De los estudios con resultados positivos, en la mayoría se detectaban anticuerpos anti-HLA de clase I (92%); en 29 pacientes se detectaron alo-anticuerpos frente a antígenos plaquetares específicos (HPA) y en otros 29 casos se hallaron anticuerpos pan-reactivos frente a una o varias glicoproteínas de membrana plaquetar (patrón de auto-anticuerpos anti-plaquetares). En más del 50% de los pacientes los resultados fueron negativos; no detectamos en el suero anticuerpos que pudieran explicar la refractariedad plaquetar. En la mayoría de estos casos, existían factores clínicos que podían explicar el bajo rendimiento observado. Cuando el estudio de refractariedad detecta anticuerpos anti-HLA de clase I o anti-HPA, procederemos a seleccionar donantes de plaquetas compatibles.

La selección de plaquetas HLA compatibles mejora el rendimiento transfusional en muchos de los pacientes con refractariedad por anticuerpos anti-HLA de clase I. Existen diferentes estrategias para buscar donantes HLA compatibles (13). Una estrategia es cruzar el suero del paciente frente a plaquetas de diferentes donantes. Podremos realizar estas pruebas cruzadas plaquetares si disponemos de aféresis de donantes en stock, o muestras de plaquetas de diferentes donantes. Se pueden realizar por diferentes técnicas, como la técnica de Adherencia de hematíes en fase sólida (SPRCA) Capture-P® o mediante citometría de flujo. También podemos intentar buscar donantes HLA idénticos para HLA-A y B, si se conoce el tipaje HLA del paciente y se dispone de un registro de donantes de plaquetas tipados para HLA de clase I. Otra estrategia es seleccionar donantes en base a los anticuerpos anti-HLA presentes en el suero del paciente, seleccionando plaquetas carentes de antígenos contra los que van dirigidos los anticuerpos del paciente. Esta última estrategia permite identificar un mayor número de posibles donantes y es muy utilizada en la actualidad gracias a la disponibilidad de los kits de identificación de anticuerpos anti-HLA (*Luminex Single Antigen*).

Finalmente, en pacientes altamente aloinmunizados, puede ser de ayuda el programa HLA-Matchmaker. Se trata de un software gratuito basado en Excel, disponible en <http://www.epitopes.net/> que permite seleccionar fenotipos compatibles identificando epítomos inmunogénicos específicos (“eplets”). El programa permite la selección de donantes de plaquetas con el mínimo número de Eplets mismatched respecto al paciente.

En un trabajo reciente, C Kalström reporta su experiencia en la búsqueda de donantes de plaquetas HLA compatibles mediante diferentes estrategias (14). Se incluyen pacientes hematológicos adultos, con refractariedad por anticuerpos anti-HLA, sin anticuerpos anti-plaquetares, y con el tipaje HLA conocido. Se comparan 3 estrategias: la transfusión de plaquetas de donantes HLA idénticos, la transfusión de plaquetas de donantes seleccionados en base al “eplet score” (Matchmaker), y la transfusión de donantes seleccionados en base a los anticuerpos anti-HLA identificados por Luminex. Los pacientes que recibieron plaquetas HLA idénticas, el 86% alcanzaron buena respuesta. Se observó una correlación entre el porcentaje de transfusiones con buena respuesta y el Eplet Score obtenido en Matchmaker. Cuando el Eplet score era < 5 , el 75% de transfusiones eran satisfactorias. Las transfusiones de plaquetas de donantes carentes de antígenos específicos, alcanzaban respuestas comparables a las de los donantes HLA idénticos. Por último, quiero resaltar que este trabajo pone en evidencia que siempre hay un porcentaje de casos en que, a pesar de seleccionar el mejor donante, en ocasiones no conseguimos un buen rendimiento, debido a la presencia de otros factores clínicos que presenta el paciente.

Referencias

1. Thorsby E. A short history of HLA. *Tissue Antigens*. 2009; 74:101–16.
2. Christof Weinstock , Martina Schnaidt. Human Leucocyte Antigen Sensitisation and Its Impact on Transfusion Practice. *Transfus Med Hemother* 2019; 46:356–368.
3. Marianne E. McPherson, Alan R. Anderson, Marta-Ine’s Castillejo et al. HLA Alloimmunization Is Associated With RBC Antibodies in Multiply Transfused Patients With Sickle Cell Disease. *Pediatr Blood Cancer* 2010;54:552–558.
4. Dorien De Clippel, Anneleen Torfs, Marie-Paule Emonds et al. Screening for HLA antibodies in plateletpheresis donors with a history of transfusion or pregnancy. *Transfusion* 2014; 54:3036-3042.
5. Stefan O. Ciurea, Kai Cao, Marcelo Fernandez-Vina et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Consensus Guidelines for the Detection and Treatment of Donorspecific Anti-HLA Antibodies (DSA) in Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 2018; 53(5): 521-534.
6. Tait BD, Hudson F, Cantwell L et al. Review article: Luminex technology for HLA antibody detection in organ transplantation. *Nephrology* 2009; 14, 247–254.
7. Sullivan HC, Gebel HM, Bray RA. Understanding solid-phase HLA antibody assays and the value of MFI. *Hum Immunol*. 2017;78:471-480.

8. Brown CJ & Navarrete CV. Clinical relevance of the HLA system in blood transfusion. *Vox Sanguinis* 2011; 101, 93–105.
9. Kaaron Benson, Steven J. Agosti, Gerardo E. Latoni-Benedetti, and German F. Leparo. Acute and delayed hemolytic transfusion reactions secondary to HLA alloimmunization. *Transfusion* 2003; 43:753-757.
10. John W. Semple, Johan Rebetz, and Rick Kapur. Transfusion-associated circulatory overload and transfusion-related acute lung injury. *Blood* 2019; 133(17):1840-1853.
11. Saris A, Pavenski K. Human Leukocyte Antigen Alloimmunization and Alloimmune Platelet refractoriness. *Transfus Med Rev.* 2020; 34(4):250-257.
12. Simon J. Stanworth, Cristina Navarrete, Lise Estcourt and Judith Marsh. Platelet refractoriness – practical approaches and ongoing dilemmas in patient management. *British Journal of Haematology* 2015; 171: 297–305.
13. Kopko PM, Warner P, Kresie L, Pancoska C. Methods for the selection of platelet products for alloimmune-refractory patients.. *Transfusion* 2015; 55(2):235-44.
14. Cecilia Karlström, Tiina Linjama, Gustaf Edgren et al. HLA-selected platelets for platelet refractory patients with HLA antibodies: a single-center experience. *Transfusion* 2019; 59(3): 945-952.