

Sensibilización anti hla en pacientes en espera de trasplante renal. 1999-2000

Anti HLA sensibilization in patients waiting for kidney transplant 1999-2000

Dra. Jenny Hernández Betancourt, Dr. Roberto Alvarez Hidalgo, Dra. Niria Herrera Cruz, Dra. Oramis Sosa Palacio

Hospital Provincial Manuel Ascunce Doménech. Camagüey, Cuba.

RESUMEN

Se realizó un estudio descriptivo sobre el comportamiento de pacientes en espera de trasplante renal. en el hospital provincial Manuel Ascunce Domenech de 1999 - 2000. El universo estuvo constituido por pacientes con insuficiencia renal crónica terminal, en lista de espera de trasplante renal de donante cadáver, procedentes de cinco unidades de diálisis del país. La muestra estuvo conformada por 45 pacientes. Se estudiaron cuatro muestras de cada paciente tomando un intervalo de dos meses. Se calculó el porcentaje de sensibilización, especificidad (con y sin uso del agente reductor Dithiotreitol, a través de las pruebas cruzadas) y se correlacionó con número de transfusiones. Predominaron los no respondedores, se conformaron grupos: mantenimiento, disminución, desaparición y aumento del porcentaje de sensibilización al aplicar Dithiotreitol. Pacientes con más de 20 transfusiones presentaron alto porcentaje de sensibilización. mayor sensibilización contra antígenos B7, B12 y A2.

DeCS: ANTÍGENOS HLA; INMUNIZACIÓN; TRASPLANTACIÓN DE RIÑÓN.

ABSTRACT

A descriptive study about the behavior of patients for kidney transplant was carried out at Manuel Ascunce Domenech provincial hospital from 1999 to 2000. The universe study was composed of patients with an end stage chronic renal failure, who were waiting for kidney transplant from a cadaver donor. They belong to five dialysis units of our country. The samples of each patient were studied taking a two months stage sensibilization percentage, specificity (with and without the use of the reducing agent Dithiotreitol, through cross-tests) was estimated and it was correlated with the transfusions number. Non respondent prevailed. Groups were formed: maintenance, diminution, disappearance and increase of the sensibilization percentage when applying Dithiotreitol. Patients with more than 20 transfusions presented high sensibilization percentage and greater sensibilization against antigens B7, B12 and A2.

DeCS: HLA ANTIGENS; IMMUNIZATION; KIDNEY TRANSPLANTATION.

INTRODUCCIÓN

La insuficiencia renal crónica (IRC) se considera actualmente dentro de las enfermedades crónicas no transmisibles como una de las de mayor incidencia (1,5 x 1000), por lo que constituye un problema de salud en el mundo.

En la actualidad es el trasplante renal el tratamiento de elección, representa en el contexto de las Ciencias Médicas un avance científico técnico que da solución a enfermedades que conducen inexorablemente a la muerte. Se basa en la clínica, cirugía e inmunología.

El riñón puede ser dañado por enfermedades crónicas primarias y secundarias que al destruir nefrones en cantidad suficiente lleva al paciente a padecer los rasgos característicos de la insuficiencia renal.¹

En la actualidad es el trasplante renal el tratamiento de elección. El trasplante en humanos descansa de manera general sobre un trípode: cirugía, clínica e inmunología. El sistema inmunitario debe discriminar entre lo peligroso y lo no peligroso. Esta discriminación crucial se obtiene a través de las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC o HLA).¹⁻³

El MHC está ubicado en el brazo corto del cromosoma 6. Estos genes codifican glicoproteínas (antígenos clase I y clase II). Se encuentran en el centro mismo de

la respuesta inmune y constituyen estímulos directos al aparato inmunológico del receptor durante las reacciones de rechazo al aloinjerto. ⁴⁻⁶

Existen dos modos distintos de control genético del destino del trasplante: compatibilidad para antígenos HLA entre donante y receptor y características de la respuesta inmune del receptor frente a los antígenos de histocompatibilidad del donante, dada fundamentalmente por los antígenos HLA del receptor y el grado de presensibilización anti HLA de éste. ³ Al describirse por primera vez un rechazo hiperagudo inmediato en un paciente que tenía anticuerpos citotóxicos preexistentes frente a las células del donante se estableció la realización de pruebas cruzadas entre el donante y el receptor. Si estas son positivas contraindican la realización del trasplante. Cuentan con un número de test adicionales, el más usado es la variante del agente reductor Dithiotreitol (D.T.T). Actualmente es elevado el número de pacientes en espera de trasplante renal de donante cadáver, que son clasificados como respondedores, por la presencia de anticuerpos linfocitotóxicos anti HLA en sus sueros reactivos frente a los paneles celulares utilizados en los estudios de la sensibilización previa al trasplante, lo que es un factor que reduce las posibilidades de estos pacientes para recibir injerto. Una vez caracterizado el sistema de histocompatibilidad a través de reacciones cruzadas y pruebas de linfotoxicidad, determinar el grado de sensibilización y el tipo específico de antígeno (Ag) que la propicia, es la motivación fundamental de nuestro estudio; interés avalado por ser uno de los propósitos fundamentales que guían la creación y desarrollo de las organizaciones de trasplante, el realizar injertos en parejas donante receptor antigénicamente compatibles.

MÉTODO

El universo de la investigación estuvo constituido por los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal, incluidos en la lista de espera de trasplante renal de donante cadáver. La muestra estuvo conformada por 45 pacientes. Se estudiaron cuatro muestras de cada uno tomando un intervalo entre cada muestra de dos meses. Las muestras se procesaron empleando la técnica de microlinfocitotoxicidad.

Los sueros se enfrentaron a un panel linfocitario constituido por 12 células de individuos sanos tipados para sus antígenos HLA clase I y II. Los pacientes se clasificaron según la presencia de anticuerpos linfocitotóxicos, emitiendo el resultado en porcentaje.

Basadas en el mismo principio de las pruebas de linfocitotoxicidad se realizaron las pruebas cruzadas usando Dithiotreitol (DTT). ^{7,8}

En el análisis de la reactividad del suero con D.T.T se comparó con la reactividad del suero sin D.T.T. se consideró un cambio de reactividad entre sueros mayor o igual al 5%. Se analizaron cuatro posibles categorías: los pacientes que mantuvieron el porcentaje de sensibilización, los que lo disminuyeron, en los que desapareció y en los que aumentó.

De acuerdo a la sensibilización obtenida en el *crossmatch* sin D.T.T utilizando un panel de 12 individuos sanos tipados para antígenos HLA Clase I-II se determinó la especificidad.

Se elaboró un sistema computarizado para determinar contra qué antígeno HLA es la producción de anticuerpos linfocitotóxicos.

Se calculó la frecuencia total (FT) que aparece en un antígeno representado en el panel y la frecuencia de positividad. Para emitir los resultados se consideró una FT igual o mayor a tres y una frecuencia de positividad igual o mayor al 50%. Tomando en cuenta este último dato, se distribuyeron los pacientes en tres grupos: I (0-10 transfusiones), II (11-20) y III (más de 20) y se correlacionó con el porcentaje de sensibilización.

RESULTADOS

En esta investigación, al obtener el porcentaje de sensibilización de cada uno de los pacientes y distribuirlos según la clasificación de respondedores y no respondedores (tabla 1) se encuentra un predominio de los últimos que representan entre el 68 y el 85% del total de pacientes en los cuatro cortes que se realizaron, con diferencias significativas estadísticamente. Del total de pacientes que analizamos sólo dos se comportan en algún momento como hiperrespondedores, cifra que representa un bajo porcentaje en relación con el total de pacientes (4, 4 %) en el segundo corte dos pacientes (2, 2 %) en el resto un paciente.

Tabla 1. Citotoxicidad según clasificación y cortes. Hospital Provincial Manuel Ascunce Domenech. 1998-1999

Categoría	1 ^{er} Corte		2 ^{do} Corte		3 ^{er} Corte		4 ^{to} Corte	
	No	%	No	%	No	%	No	%
No respondedores	38	84,4	37	82,2	33	73,3	31	68,8
Respondedores	6	13,3	6	13,3	11	24,4	13	28,8
Hiperrespondedores	1	2,2	2	4,4	1	2,2	1	2,2
Total	45		45		45		45	

P= 1,922 E-12

P= 1,338 E-11

P= 6,793 E-05

P= 1,503 E-03

En la tabla 2 se muestra la modificación que se produce en los sueros de los pacientes incluidos en esta investigación al aplicar el D.T.T. El grupo de los pacientes que mantienen el porcentaje de sensibilización predomina sobre el resto, en los cuatro cortes: 71, 1 %, 62, 2 %, 66, 6 % y 57, 7 % respectivamente. La disminución y la desaparición de la citotoxicidad se comporta de manera similar durante las cuatro determinaciones, oscilando entre 13 y 18 % en el primer caso y entre 8 y 11 % en el segundo. Se constató un aumento del porcentaje de sensibilización sólo en tres pacientes en el primer corte (6, 6 %), fue un tanto mayor en el resto: 15, 5, 8, 8 y 13, 3 %.

Tabla 2. D.T.T según variaciones de sensibilización y cortes. Hospital Provincial Manuel Ascunce Domenech. 1998 - 1999

Porcentaje de	1 ^{er} Corte		2 ^{do} Corte		3 ^{er} Corte		4 ^{to} Corte	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Sensibilización								
Mantenimiento	32	71,1	28	62,2	30	66,6	26	57,7
Disminución	6	13,3	6	13,3	6	13,3	8	17,7
Desaparición	4	8,8	4	8,8	5	11,1	5	11,1
Aumento	3	6,6	7	15,5	4	8,8	6	13,3

P= 2,914 E-08

P= 2,520 E-06

P= 3,135 E-07

P= 2,535 E-04

Según la distribución de los 45 pacientes (tabla 3) se observa que entre los grupos I y II, el primero con 12 pacientes y el segundo con 21, con un porcentaje de sensibilización de 9, 02 y 9, 92 respectivamente, no existen diferencias significativas ($p = 0, 4423$), al comparar los grupos I y III; y II y III, en este último

incluidos 12 pacientes con un porcentaje de sensibilización de 40,27 se observa una diferencia significativa $p = 2,02 \times 10^{-3}$ y $p = 7,99 \times 10^{-4}$.

**Tabla 3. Pacientes según transfusiones y porcentaje de sensibilización.
Hospital Provincial Manuel Ascunce Domenech. 1998-1999**

Número de transfusiones	Número de pacientes	Porcentaje de sensibilización
Grupo I	12	9,02
Grupo II	21	9,92
Grupo III	12	40,27

I – II: $P 0.4423$

I – III: $P 2.027 \times 10^{-3}$

II – III: $P 7.991 \times 10^{-4}$

Fuente: Listado de banco de receptores. Instituto Nacional de Nefrología.

En la tabla 4 se muestran los Ag que más frecuentemente estuvieron representados en el panel y contra cuáles están más sensibilizados los pacientes respondedores, que se repiten durante los cuatro cortes.

**Tabla 4. Positividad según respondedores y antígenos más frecuentes.
Hospital Provincial Manuel Ascunce Domenech. 1998-1999**

Número de identificación	A2	A3	A26	B7	B12	B5	B8	DR7	DR1	DR13
2	3	4	3	3	2	4	4	4	3	2
10	3	3	2	3	3	2	2	2	2	2
11	4	4	1	4	4	4	4	4	4	4
13	3	0	0	4	3	0	0	0	1	0
19	3	3	3	4	4	2	2	3	3	3
29	2	2	3	3	1	3	2	4	4	1
30	2	3	1	3	4	1	1	2	0	2
TOTAL	20	19	13	24	21	16	15	19	17	14

En el caso del locus A son los antígenos A2, A3 y A26 con una frecuencia de positividad de 20, 19 y 13 veces respectivamente. En relación al locus B, se

encuentran por orden de frecuencia B7 (24), B12 (21), B5 (16) y B8 (15) y en caso del DR cobran significación DR 7, DR 1 y DR 13.

DISCUSIÓN

En el orden práctico a los casos clasificados como no respondedores se les puede injertar con menos exigencias de compatibilidad HLA que a los respondedores.

El porcentaje que representan los respondedores en relación con el total de pacientes en este estudio se corresponde con el que se calcula para el resto de las unidades de diálisis del país. Se piensa tenga una notable influencia el hecho de que solo 12 pacientes tengan un número previo de transfusiones sanguíneas mayor de 20 y que igual número de pacientes haya sido trasplantado, dos de los factores, que se sabe tienen una estrecha correlación con el carácter de respondedor.^{7, 9}

El tratamiento de los sueros con agentes reductores de grupos sulfhidrilos es una modalidad en las técnicas de inmunología con la finalidad de distinguir la clase de inmunoglobulina (Ig), en presencia de IgM la actividad aglutinadora de células rojas se pierde.

En el grupo de pacientes donde se mantiene la reactividad es a expensas de la IgG, aunque no se puede descartar a los de la clase IgM. En el grupo donde disminuyó es reflejo de la existencia en el suero de IgM desactivadas. El tercer grupo donde desaparece la reactividad del suero tratado indica que solo existen IgM y este grupo de pacientes es favorecido pues sus Ig son potenciales autoanticuerpos, por tanto sus posibilidades al trasplante son mayores con respecto a otros grupos.

Los pacientes que se incluyen en el grupo donde se produce un aumento de la reactividad es importante su detección porque es secundario a la presencia de anticuerpos fijadores de complemento no evidentes por las pruebas cruzadas convencionales y que intervienen en las reacciones de rechazo al aloinjerto.¹⁰

A pesar de que sólo un pequeño número de respondedores cambió su categoría a no respondedores, un número mayor de todos los pacientes en espera de trasplante renal (tabla 2) disminuyeron el porcentaje de sensibilización y en otros desapareció totalmente cualquier grado de reactividad, esto nos da la medida de su importancia al desactivar las moléculas IgM que no se consideran tan importantes en las reacciones de rechazo, manteniendo activos los Ac clase IgG. Este hecho de diferenciación mejora mucho las posibilidades de trasplante.

Actualmente el uso de la transfusión sanguínea ha disminuido, así como el efecto beneficioso reportado; sin embargo, no pocos pacientes en espera de trasplante renal incluidos en esta investigación tienen historia de transfusiones. En este

estudio se encontró que no tiene importancia alguna el número de transfusiones cuando es menos de 20, en relación con el porcentaje de sensibilización, incrementándose éste de manera significativa en el grupo de pacientes que cuentan con más de 20 antes del proceder quirúrgico, argumento suficiente para evitar, siempre que esté al alcance médico esta medida terapéutica.

En los pacientes en lista de espera de trasplante renal no sólo es importante la magnitud de la respuesta de reacción y las causas que provocan su sensibilización sino que cobra gran valor conocer contra qué antígeno específicamente es la producción de Ac. Esto facilita la selección de parejas donantes receptor más compatible y conduce a una mayor probabilidad de éxito en el trasplante.

Los datos obtenidos en esta investigación se corresponden con lo planteado por otros autores; fueron los Ag A2, B12, B8 y DR 7 los más frecuentemente encontrados en la población cubana.

Determinar la especificidad en cualquier momento de la evolución de un paciente en lista de espera de trasplante renal resulta altamente ventajoso. Este hecho cobra mayor significación cuando se trata de un retrasplante. Actualmente se elimina el riñón que porte un tipaje antigénico con algún antígeno del injerto anterior. Con este método se logra precisar contra qué antígeno específicamente está sensibilizado el receptor, lo que aumenta las probabilidades de utilización de órganos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Herrera Valdés R, Valle Santana C, Arce Bustabad S, Núñez Pérez JA, Torres González A, Núñez Valdés MJ, et al. Temas de nefrología. T2. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1991.
2. Stites DP, Stobo JF, Fudenberg HH, Wells JV. Inmunología básica y clínica. 5 ed. La Habana: Editorial Científico Técnica; 1977.
3. Takemoto S. Survival of nationally shared, HLA-matched kidney transplants from cadaveric donors. N Engl J Med. 1992;12(327):834-9.
4. Terasaki PI. HLA epitope matching. Transfusion. 1992;32(8):775-86.
5. Thorogood E. Factors contributing to long term kidney graft survival in eurotransplant. Transplantation. 1992;54(1):152-8.
6. Braciale JT, Braciale VL. Antigen presentation: structural themes and functional variations. Immunol Today. 1991;12(4):124-7.

7. Scornick JC, Brunson ME, Howard RJ, Pfaff WW. Alloimmunization, memory and interpretation of crossmatch results for renal transplantation. *Transplantation*. 1992;3(54):398-94.
8. Kissmenyer N. Hyperacute retractor of kidney allograft associated with pre-existing humoral antibodies against donors cells. *Lancet*. 1986;2:662.
9. Rojas HO. Introducción de la técnica de tipaje HLA-DR en la selección de la pareja donante-receptor para el trasplante renal. La Habana: Instituto de Nefrología; 1991.
10. Mollinson PL. Blood transfusion in clinical medicine. 8 ed. Madrid: Salvat; 1987.

Recibido: 12 de abril de 2001

Aprobado: 11 de marzo de 2002

Dra. Jenny Hernández Betancourt. Especialista de I grado en Laboratorio Clínico. Hospital Provincial Manuel Ascunce Doménech, Camagüey, Cuba.