



ROL DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS LEUCOCITARIOS, PLAQUETARIOS Y DE GRANULOCITOS EN MEDICINA TRANSFUSIONAL

HLA y Transfusión, refractariedad plaquetaria y reacción febril no hemolítica

Sistema HLA

Varias de las reacciones inmunes provocadas entre el producto trasfundido y el receptor son causadas por los denominados antígenos de trasplante o de histocompatibilidad. Al grupo de genes que codifican estos antígenos se les ha agrupado bajo el término de complejo mayor de histocompatibilidad (en inglés *MHC= major histocompatibility complex*). El MHC humano está localizado en el brazo corto del cromosoma 6 y contiene una serie de genes que codifican dos tipos distintos de una glicoproteína de membrana celular altamente polimórfica, denominada antígeno leucocitario humano (HLA), pues fue detectada por primera vez en la superficie de este tipo de células.

Los antígenos HLA son moléculas del sistema inmune esenciales para las inmunidades adaptativa mediada por los linfocitos T, en el contexto de la presentación de péptidos especiales a través de las moléculas HLA (ver figura 1). Mientras cada molécula HLA puede enlazar cientos de miles de diferentes péptidos, el receptor de la célula T o TCR (*en inglés: T-cell receptor*) reconoce la secuencia del péptido solamente si ésta es presentada por la misma molécula HLA reconocida durante su maduración en el timo, proceso conocido como restricción HLA (Martin, 2008). Gracias a esta función primaria de reconocimiento de péptidos por parte de los linfocitos T, es posible eliminar toda partícula externa, extraña o “no propia” presente en un individuo, al tiempo que se previene el reconocimiento de “lo propio” como extraño.

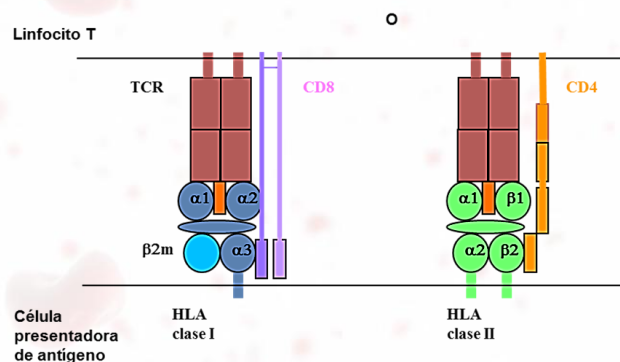


Figura 1. Estructura de las moléculas HLA y su relación con el receptor del linfocito T. Obtenida de Pullen, 2009



El término “tipificación HLA” involucra una serie de pruebas moleculares o serológicas para obtener un perfil de los leucocitos y determinar los tipos de HLA que exhiben (HLA clase I: -A,-B y -C y HLA clase II: -DP, -DQ y -DR). Los HLA de clase I contienen una cadena α polimórfica enlazada de forma no covalente a una β_2 -microglobulina. Los HLA clase I son codificados por 3 genes denominados HLA-A, HLA-B y HLA-C, son conocidos por provocar reacciones inmunes también en el contexto de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Los antígenos HLA clase II contienen una cadena α asociada de forma no covalente con una cadena β y son codificados por tres genes HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP. La región HLA es la más polimórfica del genoma humano (MHC Sequencing consortium, 1999), siendo HLA-B el gen más polimórfico. Hasta Junio de 2013 había descritos 7353 HLA clase I y 2211 clase II (Marsh, 2013).

HLA y Transfusión

La transfusión o trasplante de células o tejidos que expresan moléculas de superficie celular resulta en su reconocimiento y desarrollo subsecuente de fuertes respuestas humorales y celulares. Los antígenos del sistema HLA son particularmente eficientes en desencadenar respuestas inmunes dado que son reconocidos directa o indirectamente por las células del sistema inmune (Lechler et al., 2003). La vía directa involucra el reconocimiento directo de las moléculas de HLA localizadas en las células presentadoras de antígeno (APC) del donante, presentes en sangre o en los tejidos trasplantados. Ésta ruta es particularmente efectiva en la activación de células T inmunológicamente inmaduras. La vía indirecta sigue la misma ruta del reconocimiento de antígenos clásica, lo que en este caso involucra procesar y presentar los péptidos de HLA derivados del donante, a través de las APC del receptor. Esta vía opera más eficientemente en individuos previamente sensibilizados, que poseen células T de memoria capaces de responder al estímulo antigénico (Afzali B et al., 2007).

Otro factor que contribuye a la eficiencia inmunogénica de los antígenos del HLA es su alto grado de polimorfismo, el cual es diferencialmente expresado entre diferentes grupos poblacionales; a su vez, esto incrementa la probabilidad de transfundir o trasplantar sangre, tejidos u órganos incompatibles y así inducir una respuesta inmune (Navarrete, 2000). El sistema HLA juega un papel crítico en muchas áreas de la medicina clínica y en el escenario de la transfusión de sangre. La aloinmunización HLA ha mostrado ser responsable de algunas de las más serias complicaciones que ocurren posterior a la transfusión de sangre o hemocomponentes.



El rol de la compatibilidad HLA en la respuesta clínica al trasplante está ampliamente documentado y se realizan todos los esfuerzos para identificar el donante más compatible para cada paciente (Petersdorf, 2008). Sin embargo en el escenario de la transfusión de sangre, la provisión de productos HLA compatibles ha sido limitada y esto ha contribuido al desarrollo de reacciones inmunológicas observadas luego de la transfusión de productos sanguíneos (Brand, 2000).

Estas reacciones inmunológicas están mediadas por anticuerpos HLA presentes en el receptor que reaccionan con antígenos HLA en el producto transfundido, por ejemplo, la reacción febril no hemolítica (RFNH) o la refractariedad plaquetaria inmune. Otras reacciones están mediadas por anticuerpos HLA o células reactivas en el producto transfundido, que reconocen antígenos HLA en el receptor e incluyen la injuria pulmonar aguda asociada a la transfusión y la enfermedad injerto vs huésped asociada a la transfusión, respectivamente (Taylor et al., 2010).

La introducción de la leucorreducción universal en algunos países como medida de prevención de la enfermedad Variante de Crutzfeld-Jacob (forma humana de la enfermedad de las vacas locas), llevó a la expectativa que algunas de estas reacciones desaparecerían. A excepción de la RFNH, esto no ha sido ampliamente evidenciado.

El uso de productos leucorreducidos puede contribuir a reducir las tasas de aloinmunización en receptores no sensibilizados eliminando las células, por ejemplo células dendríticas que podrían directamente estimular el sistema inmune. Sin embargo en receptores ya sensibilizados tales como mujeres múltiparas o pacientes multitransfundidos, las células T de memoria pueden ser rápidamente activadas por las propias APC del receptor, presentando péptidos antigénicos derivados de las moléculas HLA incompatibles presentes en el producto transfundido.

Algunos estudios sugieren que una leucorreducción extrema de células B positivas para HLA de clase II podría incrementar en lugar de reducir la aloinmuización (Semple et al., 1999) y que factores genéticos y/o la presencia de células T reguladoras (Tregs) podría también contribuir a la capacidad de pacientes individuales a montar una alorespuesta (Bao et al., 2009)

Refractariedad a la transfusión de plaquetas

Un aumento menor de lo esperado en el recuento de plaquetas ocurre en aproximadamente 20% al 70% de pacientes trombocitopénicos multitransfundidos (Triulzi et al, 2009). Aquellos con trastornos hematopoyéticos malignos son particularmente propensos a convertirse en



refractarios a transfusiones de plaquetas. Las respuestas a las transfusiones de plaquetas a menudo se determinan a los 10 y 60 minutos después de la transfusión, ya sea mediante el cálculo del incremento del recuento corregido (ICC) o de la recuperación plaquetaria post-transfusión (RPP), ambos normalizan las respuestas a la transfusión para el volumen de sangre del paciente y la dosis de plaquetas. La mayoría de guías están de acuerdo en que un ICC de menos de 5.000 a 7.500 plaquetas/mm³ a 1 hora post-transfusión después de dos transfusiones consecutivas, define el estado refractario.

Aunque el ICC y las mediciones de RPP se utilizan comúnmente para evaluar el éxito de transfusiones de plaquetas, estos cálculos pueden inducir a error, especialmente cuando se administran dosis más pequeñas de plaquetas. En una reevaluación de los datos de un ensayo clínico a gran escala de transfusiones de plaquetas (Slichter et al., 2005) los autores sostienen que los incrementos absolutos del recuento de plaquetas postransfusión, son más útiles en la evaluación del impacto de diferentes modificaciones a los componentes plaquetarios, tal como la leucorreducción por filtración, particularmente si estas manipulaciones resultan en dosis más bajas de plaquetas en el producto final transfundido. En el contexto de amplios estudios, donde un número suficiente de pacientes y transfusiones pueden ser analizados, el incremento del recuento post-transfusión de plaquetas (junto con múltiples factores inmunes y no inmunes, volumen sanguíneo y la dosis de plaquetas) puede ser evaluado por regresión múltiple para determinar adecuadamente el impacto de las diferentes manipulaciones a los componentes sobre la respuesta a la transfusión.

Sin embargo, hay determinantes para hablar de una pobre respuesta (Murphy, 2008):

- **Conteo de plaquetas:** después de una dosis adecuada se espera encontrar como mínimo un recuento de $20 \times 10^3/\mu\text{L}$. Pueden contarse 1 hora después de la transfusión o evaluarse entre las 18–24 horas y si el valor es inferior al indicado, puede decirse que es una pobre respuesta.
- **Incremento de plaquetas:** después de una dosis adecuada, se espera un incremento mínimo de 5 o $10 \times 10^3/\mu\text{L}$, si la respuesta es inferior, nos encontramos frente a una pobre respuesta, tras el mismo tiempo post-transfusión que el conteo.
- **Incremento del conteo corregido:** en este determinante se espera que tras un tiempo de 1 hora post-transfusión, el conteo sea mayor a $10 \times 10^3/\mu\text{L}$, mientras que para un tiempo de 18-24 horas después, un conteo de 5, 7.5 o $10 \times 10^3/\mu\text{L}$. En caso que sea inferior a los valores en ambos casos, se puede decir que es una pobre respuesta.



- Recuperación de plaquetas: esta se mide en porcentaje, donde se espera tener una recuperación de las mismas, para el caso de 1 hora que no sea menor al 30% y para 18-24 horas después, que no sea menor al 20%.

La refractariedad plaquetaria puede ser el resultado de causas inmunológicas y/o no inmunológicas. Los factores no inmunológicos incluyen plaquetas senescentes o mal almacenadas, secundaria a la presencia de sepsis, coagulación intravascular diseminada (CID) y el consumo de ciertos medicamentos como la anfotericina B y ciprofloxacina. En contraste, la refractariedad inmunológica causada por la destrucción mediada por anticuerpos de las plaquetas transfundidas, es normalmente debida a la presencia de anticuerpos específicos contra HLA de clase I, aunque los anticuerpos contra antígenos plaquetarios humanos (HPA) y los aloanticuerpos ABO de alto título, también han sido en ocasiones implicados. La mayoría de los casos reportados de anticuerpos HPA que independientemente causan refractariedad plaquetaria, resultan revaluados, ya que en la mayoría de los casos se trata de pacientes altamente inmunizados para HLA (Kiefel et al., 2001).

Los casos individuales de refractariedad debido a ABO de alto título han sido reportados en pacientes tratados con plaquetas HLA compatibles donde la transfusión de plaquetas ABO no compatibles a pacientes aloinmunizados puede resultar en una reducción del 20% en los incrementos de plaquetas post transfusión (Carr et al., 1995). Complejos inmunes circulantes que implican el sistema ABO también han demostrado que afectan la supervivencia de las plaquetas transfundidas. Otros anticuerpos antiplaquetarios, como aquellos inducidos por fármacos, por ejemplo vancomicina, también han sido implicados pero su ocurrencia es rara.

Los modelos animales han demostrado que el alorreconocimiento indirecto de péptidos HLA derivados de plaquetas promueven el desarrollo de las respuestas IgG1 (Bang et al., 2000). Sin embargo, la aloinmunización no siempre resulta en refractariedad plaquetaria, lo que puede ser debido a la presencia de anticuerpos de bajo título o de baja frecuencia en los pacientes. Dado que la destrucción de las plaquetas se produce a través del sistema monocito/macrófago y el FcR expresado en monocitos se une preferentemente a IgG3 e IgG1, la presencia de estos anticuerpos podría ser más relevante.

La investigación para los pacientes con refractariedad plaquetaria inmune normalmente debe comenzar después del fracaso documentado para obtener incrementos utilizando plaquetas frescas de donantes individuales ABO idénticos. Si estos fallan los pacientes son examinados para detectar la presencia de anticuerpos específicos de HLA. Si resultan positivos, los



productos compatibles HLA se indican y la tipificación de HLA se lleva a cabo con el fin de identificar la unidad de plaquetas HLA compatible más adecuada. Aunque las plaquetas expresan antígenos HLA-A, B y C, la mayoría de los laboratorios sólo realizan tipificación HLA-A y -B y detección de anticuerpos para estos pacientes; por lo tanto, la importancia clínica de los anticuerpos HLA-C en la refractariedad inmunológica aún permanece por establecer.

Varios enfoques diferentes se han utilizado para el tratamiento de pacientes con refractariedad inmune a plaquetas, los cuales incluyen:

- 1) El suministro de plaquetas compatibles con pruebas cruzadas; aquí el suero del paciente se cruza con las plaquetas de los donantes. Este enfoque puede ser útil si el paciente no está altamente sensibilizado pero tiene la desventaja de que tiene el potencial para inmunizar al paciente contra antígenos incompatibles y no es adecuado para el soporte transfusional de plaquetas a largo plazo.
- 2) El segundo enfoque para la gestión de transfusiones de plaquetas para los pacientes con refractariedad inmune implica la provisión de plaquetas compatibles únicamente con base en el perfil de anticuerpos HLA del paciente y sin compatibilizar al tipo de HLA del paciente. Este enfoque puede ser útil para el apoyo a la transfusión de plaquetas a corto plazo pero tiene el potencial de inmunizar al paciente a los antígenos incompatibles en las plaquetas transfundidas lo que puede comprometer la eficacia de transfusiones futuras.
- 3) El tercer enfoque implica la provisión de plaquetas HLA seleccionadas, basado en el tipo de HLA del paciente y de su perfil de anticuerpos HLA usando un panel de donantes tipificados HLA.

Reacción transfusional febril no hemolítica (FNHTR/RFNH)

La RFNH es una de las reacciones transfusionales más frecuentes y se define como la ocurrencia del aumento de 1°C o más con respecto a la temperatura base, durante o hasta 2 horas después de la transfusión, para lo cual no hay otra causa identificable. Toda fiebre durante o post-transfusional es un signo de alerta, puesto que la fiebre puede sugerir otras reacciones transfusionales muy graves como la reacción febril hemolítica, la contaminación bacteriana o un TRALI, por lo cual la RFNH es un diagnóstico de exclusión.



La RFNH se caracteriza típicamente por fiebre, temblor y escalofrío, aunque en ocasiones también se pueden presentar aumento de la frecuencia respiratoria, cambios en la tensión arterial, ansiedad y cefalea. La mayoría son benignas aunque la presencia de incomodidad puede causar cambios hemodinámicos importantes. Su incidencia, varía entre 1:17 hasta 1:200 transfusiones, se reduce considerablemente cuando se utilizan componentes leucorreducidos (AABB, 2011).

Aunque la RFNH puede ser disparada por una variedad de factores, anticuerpos anti HLA, HNA y en menor medida HPA, presentes en el receptor y que reaccionan con las células blancas o plaquetas en el producto transfundido, han mostrado ser el gatillo inmunológico principal de estas reacciones (Fadeyi et al., 2008). Anticuerpos contra las células blancas se encuentran en el 70% o más de los pacientes que sufren una RFNH (Tazzari et al., 2005). En la mayoría de los casos, es probable que el complejo antígeno/anticuerpo directamente active las células para producir citoquinas pirogénicas que llevan a la reacción febril.

Un número importante de estudios ha reportado una reducción en la incidencia de RFNH luego de leucoreducción universal pre-almacenamiento (Paglino et al., 2004). El menor número de leucocitos no solo presenta menos blancos para los anticuerpos reactivos sino también reducen la probabilidad de sensibilización en el paciente no sensibilizado.

La RFNH puede ocurrir luego de la primera exposición a plaquetas en pacientes que no han sido previamente inmunizados con leucocitos, indicando que en esos casos es probable que la reacción no sea mediada por anticuerpo y otros mediadores solubles sean importante. La edad del hemocomponente es de importancia, ya que hay una correlación lineal entre los niveles de citoquinas, contenido de leucocitos y la duración del almacenamiento con una mayor acumulación de citoquinas a temperaturas de almacenamiento de plaquetas de 22°C comparado con glóbulos rojos a 4°C.

El uso de productos frescos leucorreducidos también parece prevenir la mayoría de casos debido a la acumulación de citoquinas durante el almacenamiento, dado que la remoción de los leucocitos a menos de 1 millón por componente previene la acumulación de IL-8 y citoquinas inflamatorias tales como IL 1B, IL-6 y TNF tanto en glóbulos rojos como plaquetas (Chudziak et al, 2009). El CD40L soluble también ha sido implicado en esta clase de eventos adversos

Cuando se sospecha una RFNH, la transfusión debería discontinuarse e iniciarse el esquema de investigación y reporte de reacción adversa. Se deben administrar antipiréticos y el paciente podría ser transfundido con un buen margen de seguridad una vez que se mitiguen los



síntomas. En general, el volumen restante del componente implicado no debería ser transfundido. Entre algunas de las situaciones válidas en la cual se puede considerar la transfusión del volumen remanente es el caso de una unidad con grupo raro. La pre-medicación con acetaminofén podría ser benéfica para los pacientes con historial de RFNH (Ezidiegwu et al., 2004).

Bibliografía

AABB. Noninfectious Complications of Blood Transfusion, Chap 27, AABB Technical Manual 17th Ed. 2011

Afzali B, Lechler RI, Hernandez-Fuentes MP: Allorecognition and the alloresponse: clinical implications. *Tissue Antigens* 2007; 69:545–556

Bang WA, Speck ER, Blanchette VS, et al.: Unique processing pathways within recipient antigen-presenting cells determine IgG immunity against donor platelet MHC antigens. *Blood* 2000; 95:1735–1742

Bao w, Yu J, Heck S, et al.: Regulatory T-cell status in red cell alloimmunized responder and nonresponder mice. *Blood* 2009; 113:5625–5627

Brand A: Immunological aspects of blood transfusions. *Blood Rev* 2000; 14:130–144

Carr R, Hutton JL, Jenkins JA, et al. Transfusion of ABO-mismatched platelets leads to early platelet refractoriness. *Br J Haematol* 1995; 75:408–413

Chudziak D, Sireis W, Pfeiffer HU, et al. Accumulation of soluble inflammatory mediators between blood donation and pre-storage leucocyte depletion. *Vox Sang* 2009; 96:163–166

Ezidiegwu CN, Lauenstein KJ, Rosales LG, et al. Febrile nonhemolytic transfusion reactions. Management by premedication and cost implications in adult patients. *Arch Pathol Lab Med* 2004;128:991-5.

Fadeyi EA, Adams S, Sheldon S, et al. A preliminary comparison of the prevalence of transfusion reactions in recipients of platelet components from donors with and without human leucocyte antigen antibodies. *Vox Sang* 2008; 94:324–328



Kiefel V, König C, Kroll H, et al.: Platelet alloantibodies in transfused patients. *Transfusion* 2001; 41:766–770

Lechler RI, Garden OA, Turka LA: The complementary roles of deletion and regulation in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol* 2003; 3:147–158

Marsh SG. Nomenclature for factors of the HLA system, update June 2013. *Hum Immunol*. 2013 Jul 19. doi: 10.1016/j.humimm.2013.07.005. [Epub ahead of print]

Martin PJ (2008) Overview of Hematopoietic Cell Transplantation Immunology. In: Appelbaum et al. (eds.) *Thomas's hematopoietic cell transplantation*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, cap 11.

MHC Sequencing Consortium. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature* 1999;401:921–923

Murphy M. Refractoriness to platelet transfusions. Lecture given at the MSc course in Transfusion and Transplantation Sciences, University of Bristol, Jun 2008.

Navarrete C: The HLA system in blood transfusion; in Contreras M (ed.): *New Aspects of Blood Transfusion*. London, Bailliere's Clinical Haematology, 2000

Petersdorf EW: Optimal HLA matching in hematopoietic cell transplantation. *Curr Opin Immunol* 2008; 20:588–593

Semple JW, Speck ER, Cosgrave D, et al.: Extreme leukoreduction of major histocompatibility complex class II positive B cells enhances allogeneic platelet immunity. *Blood* 1999; 93:713–720

Slichter SJ, Davis K, Enright H, et al. Factors affecting posttransfusion platelet increments, platelet refractoriness, and platelet transfusion intervals in thrombocytopenic patients. *Blood* 2005;105:4106-14.

Taylor C, Navarrete C, Contreras M: Immunological complications of transfusion; in Maniatis A, Van der Linden P, Hardy JF (eds): *Alternatives to Blood Transfusion in Transfusion Medicine*. Oxford, Wiley-Blackwell, 2010:31–47

Tazzari PL, Bontadini A, Zamagni C, et al.: Febrile non-haemolytic transfusion reaction caused by antibodies against human platelet antigen 5a. *Transfus Med* 2005; 15:443–444

Triulzi DJ, Dzik WH. Leukocyte-reduced blood components: Laboratory and clinical aspects. In: Simon TL, Snyder EL, Solheim BG, et al, eds. *Rossi's principles of transfusion medicine*. 4th ed. Bethesda, MD: AABB Press, 2009:228-46.

