UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA

DETERMINACIÓN DEL UMBRAL SIGNIFICATIVO DE ANTICUERPOS ANTI-HLA ESPECÍFICOS CONTRA DONADOR EN TRASPLANTE HAPLOIDÉNTICO RELACIONADO DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS

PRESENTA

MARIA LUISA RUIZ DE LA CRUZ

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN LABORATORIO DE HEMATOLOGIA

Junio 2022

"DETERMINACIÓN DEL UMBRAL SIGNIFICATIVO DE ANTICUERPOS ANTI-HLA ESPECÍFICOS CONTRA DONADOR EN TRASPLANTE HAPLOIDÉNTICO RELACIONADO DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS"

Dr. med. José Carlos Jaime Pérez

Director de Tesis

Dr. Luis Javier Marfil Rivera

Miembro de la Comisión de Tesis

Dr. David Gómez Almaguer

Codirector de la Comisión de Tesis

Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez

Subdirector de Estudios de Posgrado

"DETERMINACIÓN DEL UMBRAL SIGNIFICATIVO DE ANTICUERPOS ANTI-HLA ESPECÍFICOS CONTRA DONADOR EN TRASPLANTE HAPLOIDÉNTICO RELACIONADO DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS"

Presentado por:

Q.F.B. María Luisa Ruiz de la Cruz

Este trabajo se realizó en el Servicio de Hematología del departamento de Medicina Interna del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la Universidad Autónoma de Nuevo León, bajo la dirección del Dr. med. José Carlos Jaime Pérez.

Dr. med. José Carlos Jaime Pérez

Director de Tesis

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, el Dr. med. José Carlos Jaime Pérez, por guiarme a lo largo de este proyecto de investigación, brindándome siempre su confianza y conocimientos, a la vez que me compartió los mejores consejos para continuar mi desarrollo como profesionista y en el campo de la investigación.

A la Q.C.B.E.H. Rosario Salazar Riojas por abrirme las puertas del Laboratorio de Hematología y permitirme desenvolverme siempre en pro de mi aprendizaje basado en experiencias enriquecedoras.

Al equipo de Medicina Molecular, a la M.C. Sandra Mendoza, a la M.C. Leslie López, al M.L.H Carlos Cancela y a la Dra. Nidia Moncada, por apoyarme día a día con sus conocimientos, con su vasta experiencia y sus consejos, para poder desarrollar el presente tema de tesis, así como mis habilidades y pensamiento crítico en el laboratorio.

Al Dr. Carlos A. de la Cruz, por formar parte clave en el desarrollo de este proyecto con el análisis estadístico.

A los miembros de la Comisión de tesis, el Dr. David Gómez Almaguer y al Dr. Luis Javier Marfil Rivera, así como a todo el equipo del Laboratorio de Hematología, químicos, profesores, médicos residentes y al personal administrativo, por ser piezas claves en el éxito y crecimiento personal y profesional de todos aquellos que tuvimos la fortuna de vivir esta aventura, como lo es la Maestría, en tan hermoso Servicio.

DEDICATORIA

Para Armando García

Por su amor incondicional, su paciencia inagotable y los ánimos eternos.

RESUMEN

Q.F.B. María Luisa Ruiz de la Cruz
Fecha de graduación: Agosto 2022

Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Medicina

Título del estudio:
"DETERMINACIÓN DEL UMBRAL SIGNIFICATIVO DE ANTICUERPOS ANTI-HLA ESPECÍFICOS CONTRA DONADOR EN TRASPLANTE HAPLOIDÉNTICO RELACIONADO DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS"

Número de páginas: 67

Candidata para el Grado de Maestría en Laboratorio de Hematología
Área de estudio: Laboratorio de hematología.

"Propósito y método del estudio": El trasplante de células hematopoyéticas de donador haploidéntico ha demostrado ser una buena alternativa en el tratamiento de enfermedades hematológicas, sin embargo, se ha planteado examinar al receptor en búsqueda de anticuerpos anti-HLA donador específicos (DSA), y establecer un umbral a partir del cual se pueden observar efectos clínicos adversos, para así poder tomar decisiones adecuadas en el manejo de pacientes sensibilizados. Se analizaron retrospectivamente los registros de 70 pacientes que se sometieron a trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas obtenidas por leucoféresis de un donador relacionado. Se realizó una prueba cruzada virtual empleando la tipificación HLA del donador y los niveles de MFI de los anticuerpos específicos anti-HLA presentes en el suero del receptor. Se consideraron DSA positivos los receptores que presentaron valores mayores a 500 MFI, siendo este el umbral propuesto, y como controles los sujetos que obtuvieron valores menores a 500 MFI. Se buscó la correlación estadística con las variables clínicas implicadas en el trasplante de células hematopoyéticas.

"Contribuciones y conclusiones": El presente estudio permitió valorar el significado clínico de la presencia de DSA pre trasplante, encontrándose asociación estadística entre el umbral propuesto (DSA>500 MFI) con un aumento en la incidencia de infecciones y con una mayor mortalidad en el primer año post trasplante. Además, se encontró que en el kit comercial utilizado para la determinación de anticuerpos anti-HLA la representación antigénica correspondiente al HLA de la población mexicana no es suficiente, abriéndose así un panorama exploratorio para la evaluación futura de alternativas a la prueba de laboratorio.

"Palabras clave": anticuerpos anti-HLA donador específicos, falla del injerto, trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas.

Dr. med. José Carlos Jaime Pérez
Director de Tesis

Abstract

Title:

Determination of the significant threshold for donor-specific anti-HLA antibodies in related hematopoietic stem-cell transplantation

"Research aim and methodology": Hematopoietic stem-cell transplantation from an haploidentical donor has proven to be a good alternative in the treatment of hematological diseases, however, it has been proposed to examine the recipient in search of donor-specific anti-HLA antibodies (DSA), and establish a threshold from which adverse clinical effects can be observed, in order to make appropriate decisions in the management of sensitized patients. The records of 70 patients who underwent haploidentical stem-cell transplantation, obtained by leukapheresis from a related donor were retrospectively analysed. A virtual crossmatch was performed using the donor HLA typing and MFI levels of donor-specific anti-HLA antibodies present in the recipient serum. Recipients who presented values greater than 500 MFI were considered DSA positive, as the proposed threshold, and subjects who obtained values less than 500 MFI were considered as controls. This was statistically correlated with clinical variables involved in hematopoietic stem-cell transplantation.

"Contributions and conclusions": The present study made it possible to assess the clinical significance of the presence of pre-transplant DSA, finding a statistical association between the proposed threshold (DSA>500 MFI) with an increased incidence of infections and higher mortality in the first year post-transplant. In addition, it was found that in the commercial kit used for the determination of anti-HLA antibodies, the antigenic representation corresponding to the HLA of the Mexican population is not sufficient, thus an exploratory panorama is opened for the future evaluation of alternatives to the laboratory test.

"Key words": donor-specific anti-HLA antibodies, graft failure, haploidentical stem-cell transplantation

CONTENIDO

1 INTRODUCCIÓN 1
1.1 Trasplante Haploidéntico relacionado de células hematopoyéticas... 2
1.2 Mecanismo inmunológico para la generación de anticuerpos anti-HLA y sus consecuencias en el injerto 4
1.3 Anticuerpos específicos anti-HLA vs. donador. 5
1.4 Falla del injerto 7
1.5 Otras causas de fracaso en el injerto de células hematopoyéticas ... 8
1.6 Estrategias de manejo para pacientes sensibilizados 9
1.7 Determinación de anticuerpos anti-HLA específicos contra el donador 9
1.8 Inmunoensayo en la plataforma Luminex 13
1.8.1 Interferencias con la prueba 15
2 ANTECEDENTES 17
2.1.1 Punto de corte y umbral significativo en MFI para DSA 17
3 JUSTIFICACIÓN 20
4 HIPÓTESIS 21
5 OBJETIVOS 22
5.1 Objetivo general 22
5.2 Objetivos específicos 22
6 DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO 23
6.1 Diseño metodológico 23
6.2 Consideraciones éticas 23
6.3 Confidencialidad de la información 23
6.4 Tamaño de la muestra y técnica de muestreo 23
6.5 Criterios de inclusión 24
6.6 Criterios de exclusión 24
6.7 Criterios de eliminación 25
7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO 26
7.1 Variables por estudiar 26

7.2 Consideraciones para la evaluación del injerto 26
7.3 Diseño estadístico 27
8 RESULTADOS 28
8.1 Características de los pacientes 28
8.2 Características de los donadores 30
8.3 Determinación de DSA 30
8.4 Características del trasplante 36
8.5 Resultados clínicos adversos 39
8.6 Asociación de DSA con las variables estudiadas 41
9 DISCUSIÓN 49
10 CONCLUSION 56
11 PERSPECTIVAS 57
12 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Antecedentes de estudios sobre el impacto de DSA en diferentes contextos del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas 7
Tabla 2. Incompatibilidad en el sistema AB0 en trasplante de células progenitoras. 9
Tabla 3. Características de los receptores TCH haploidéntico. 29
Tabla 4. Características de los donadores..... 30
Tabla 5. Distribución de intensidades MFI para los DSA 31
Tabla 6. Pacientes con DSA >500 MFI 31
Tabla 7. Antígenos HLA no incluidos en el kit comercial para detección de DSA 32
Tabla 8. Antígenos no representados en el kit y su frecuencia en la población mexicana 34
Tabla 9. Frecuencias alélicas en 234 mexicanos y representación en la detección de DSA 35
Tabla 10. Pacientes en protocolo de desensibilización..... 37
Tabla 11. Características del TCH y evaluación del injerto..... 39
Tabla 12. Complicaciones en TCH haploidéntico 40
Tabla 13. Segundos transplantes y mortalidad en TCH haploidéntico..... 41
Tabla 14. Asociación de DSA con características pre TCH de los pacientes 44
Tabla 15. Asociación de DSA con las características del donador 45
Tabla 16. Asociación de DSA con las características del TCH y resultados del injerto 46
Tabla 17. Asociación de DSA con complicaciones clínicas y mortalidad en TCH haploidéntico 47
Tabla 18. Falla del Injerto en TCH haploidéntico 48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Segregación de haplotipos 2
Figura 2. Respuesta inmune humoral contra antígenos HLA 4
Figura 3. Diseño de perlas para el cribado y especificidad de anticuerpos anti-HLA 12
Figura 4. Visión general del inmunoensayo por Luminex xMAP 14
Figura 5. Esquema del diseño de las perlas Luminex..... 14
Figura 6. Determinación semi cuantitativa de anticuerpos anti-HLA por Luminex 15

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Anemia aplásica
ATG	Globulina anti-timocito
CDC	Citotoxicidad dependiente de complemento
CMV	Citomegalovirus
DSA	Del inglés Donor Specific Antibodies; anticuerpos específicos contra el donador
DTT	Ditiotreitol
EBMT	Sociedad Europea para el Trasplante de Sangre y Médula Ósea
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EICH	Enfermedad de Injerto Contra Huesped
ELISA	Ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas
FCXM	Citometría de flujo
HHV6	Virus herpes humano 6
HLA	Del inglés Human Leukocyte Anitgen; antígeno leucocitario humano
LH	Linfoma de Hodgkin
LLA-B	Leucemia linfoblástica aguda de células B
LLA-T	Leucemia linfoblástica aguda de células T
LLC	Leucemia linfoide crónica
LMA	Leucemia mieloblástica aguda

LMC	Leucemia mieloide crónica
LNH	Linfoma no Hodgkin
MAC	Del inglés Myeloablative Conditioning, acondicionamiento de intensidad reducida
MFI	Del inglés Mean Fluorescence Intensity; intensidad media de fluorescencia
MHC	Del inglés Major Histocompatibility Complex; complejo mayor de histocompatibilidad
NK	Del inglés Natural Killer cells, células natural killer
PRA	Panel Reactivo de Anticuerpos
RIC	Del inglés Reduced Intensity Conditioning, acondicionamiento de intensidad reducida
SAB	Del inglés Single Antigen Bead; perla de antígeno único
SMD	Síndrome mielodisplásico
TCH	Trasplante de células hematopoyéticas
VXM	Prueba Cruzada Virtual

1 INTRODUCCIÓN

El trasplante alogénico de células hematopoyéticas (TCH), después de la administración de un régimen de acondicionamiento, representa una cura potencial para malignidades hematológicas y desórdenes no malignos hematológicos[1–3]. Este tipo de trasplante ha demostrado ser una buena alternativa y/o complemento a la quimio-radioterapia, ya que produce un rápido prendimiento del injerto y estabilización de las funciones hematopoyéticas[1,4].

El TCH con un HLA (Human Leukocyte Antigen) distinto al del donador puede propiciar una respuesta inmune humoral por la presencia de anticuerpos anti-HLA preexistentes, debidos a eventos sensibilizantes a los que previamente se haya expuesto el paciente. Estos anticuerpos pueden generar una falla del injerto, con una incidencia que va del 2 al 15%[4], lo que contribuye a incrementar la morbilidad y mortalidad post trasplante.

Los métodos para la detección y determinación de la especificidad de los anticuerpos anti-HLA permiten conocer si estos anticuerpos son dirigidos contra los antígenos HLA del donador, por lo que se emplean diversas técnicas, entre las cuales están las de fase sólida, como la de perlas marcadas con fluorocromos que tienen adherido a su superficie antígenos HLA que capturan los anticuerpos presentes en el suero del receptor; esta técnica es conocida como *Single Antigen Bead (SAB)*; los anticuerpos son detectados gracias a un conjugado de anticuerpo con ficoeritrina, la cual emite una señal fluorescente que es traducida a valores de *MFI* (*Mean Fluorescence Intensity*).

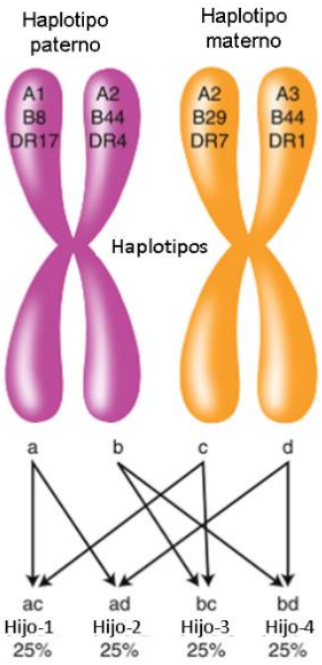
No se ha determinado un valor específico de MFI que defina el umbral para la toma de decisiones clínicas sobre el manejo del paciente antes del trasplante de TCH, por lo que es pertinente investigar los efectos clínicos de la presencia de niveles altos de MFI de anticuerpos anti-HLA específicos contra el donador (*DSA, donor specific antibodies)* y las variables relacionadas a eventos sensibilizantes.

1.1 Trasplante Haploidéntico relacionado de células hematopoyéticas

Cuando no se cuenta con una donador HLA-idéntico se puede optar por este tipo de trasplante, en el que el donador, generalmente un familiar en primer grado, es histocompatible en los antígenos de un solo haplotipo del sistema HLA[5], ya que la probabilidad de encontrar un donador HLA idéntico entre hermanos es de 25%[1,3,6,7] . Lo anterior debido a que estos antígenos se heredan como rasgos mendelianos simples.

Los genes de los antígenos del sistema HLA están localizados en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, *major histocompatibility complex*), localizado en el brazo corto del cromosoma 6 que se hereda en bloque como un haplotipo (Figura 1), estos genes están distribuidos en diferentes loci estrechamente ligados y denominados HLA de clase I (HLA-A, -B, -C) y clase II (HLA-DRB1, -DRB3/4/5, -DQA1,-DQB1, -DPA1, -DPB1).

Figura 1. Segregación de haplotipos



Nota: Adaptada de Zhang Q, Hickey MJ, Valenzuela NM, et al. Practical Atlas of Transplant Pathology. *Pract Atlas Transpl Pathol*. Published online 2016.

Estos genes contribuyen al reconocimiento de los antígenos propios y no propios durante la respuesta inmune a un estímulo antigénico, coordinando la respuesta de inmunidad celular y humoral.

Los productos de los genes HLA son moléculas de glucoproteínas que se encuentran expresadas con intensidades variables sobre la membrana de la mayoría de las células del cuerpo humano, incluyendo: linfocitos, granulocitos y monocitos, además de plaquetas, las cuales solo expresan los correspondientes a la Clase I. Los eritrocitos maduros pierden la expresión de antígenos HLA, aunque como normoblastos nucleados sí lo expresan; en el eritrocito constituyen el sistema Bg (Benett-Goodspeed)[8]. Además, los antígenos HLA presentan un alto grado de polimorfismo, que conduce a diferentes especificidades alélicas, contribuyendo a la diversidad de la respuesta inmune frente a antígenos diferentes a los propios del individuo (excepto en casos de autoinmunidad[9].

De acuerdo con las recomendaciones de Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN), la donación de padres, hermanos u otros familiares que comparten un solo haplotipo HLA-A, -B, -C y -DRB1 (match 4/8, sólo una discrepancia o *missmatch* por locus) tipificado por mediana o alta resolución con el receptor se define como haploidéntico relacionado[6].

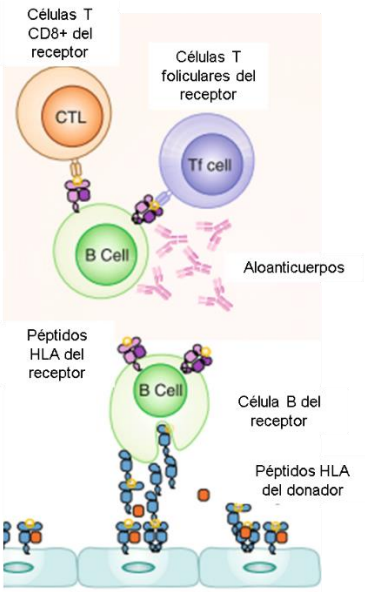
Este tipo de donación conlleva el riesgo de falla primaria del injerto[2,10–13], rechazo y enfermedad de injerto contra huésped aguda en pacientes alosensibilizados contra antígenos HLA que reciben trasplante de progenitores hematopoyéticos[4,12], por lo que en los receptores potenciales es necesario buscar la presencia de anticuerpos específicos contra los antígenos HLA del donador[1,3,6,7].

1.2 Mecanismo inmunológico para la generación de anticuerpos anti-HLA y sus consecuencias en el injerto

El trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas ha sido relacionado con una mayor frecuencia de rechazo del injerto debida a una fuerte aloreactividad del receptor, y puede acompañarse de enfermedad de injerto contra huésped (EICH) producida por las células T del donador [1].

El mecanismo de la respuesta inmune a aloantígenos HLA puede darse como respuesta celular por la activación de las células T CD4+ y T CD8+ por el complejo HLA-péptido en la superficie de las células del donador, desencadenando el rechazo agudo. En contraste, los antígenos de las células del donador son procesados y presentados en el contexto de HLA clase II auto restringido por las células B del receptor. Las células foliculares T-CD4+ son activadas, generando células T efectoras CD8+ y células B productoras de anticuerpos, las cuales generan aloanticuerpos contra antígenos HLA llevando a un rechazo mediado por anticuerpos [14] (Figura 2).

Figura 2. Respuesta inmune humoral contra antígenos HLA



Nota: Adaptada de Zhang Q, Hickey MJ, Valenzuela NM, et al. Practical Atlas of Transplant Pathology. *Pract Atlas Transpl Pathol*. Published online 2016.

El rechazo mediado por células T se ha considerado históricamente la causa principal de un pobre funcionamiento del injerto en el trasplante de células hematopoyéticas, incluso en parejas de donador/receptor HLA compatibles[5].

En regímenes de acondicionamiento no mieloablativos, la supervivencia de células T y NK del receptor pueden ser responsables de la respuesta inmune celular. Siendo así aloreacciones bidireccionales, como el caso de enfermedad de injerto contra huésped y enfermedad de huésped contra tejido[5,13].

Con la depleción selectiva de células T disminuye el riesgo de EICH y del fallo del injerto en el trasplante haploidéntico[5,7]. No obstante en las instituciones la tendencia es emplear progenitores hematopoyéticos sin manipular[13]. En países en desarrollo incide además el alto costo de la depleción de células T[15].

La falla primaria del injerto es una complicación con mal pronóstico, que se asocia a una elevada mortalidad post trasplante, antecedida por complicaciones infecciosas o por una rápida recaída debido a la falta de funcionamiento del injerto[5].

La comprensión de un rechazo mediado por la respuesta inmune humoral reside en la presencia de altos títulos de múltiples anticuerpos, aunque el mecanismo exacto no ha podido ser identificado [5,12]. Existen dos formas de rechazo mediado por anticuerpos, la citotoxicidad mediada por anticuerpos y la citotoxicidad mediada por complemento[5,16].

1.3 Anticuerpos específicos anti-HLA vs. donador.

La exposición a antígenos HLA no propios resulta en el desarrollo de anticuerpos anti-HLA de tipo IgG, los cuales pueden ser específicos para un antígeno o a un epítope que sea compartido por varias moléculas HLA, resultando en una reactividad cruzada[17].

Los anticuerpos anti-HLA pueden existir en personas sanas, no sometidas a trasplante o transfusiones, sin historial de gravidez con una prevalencia de <1-5% [5,18].

No todos los anticuerpos anti-HLA son dirigidos específicamente hacia los antígenos del donador, por lo que se debe realizar un esfuerzo para cribar a los pacientes en búsqueda de DSA antes del trasplante, con la finalidad de buscar un potencial donador que no tenga los antígenos HLA contra los que está sensibilizado el receptor previo al trasplante para evitar los resultados negativos en el injerto y sobrevida [5].

La aloinmunización previa al trasplante en mujeres puede deberse a embarazos donde la madre desarrolla anticuerpos contra los antígenos HLA del padre que comparte con el hijo; por lo anterior, el grado de sensibilización aumenta con el número de embarazos[19] [5,12,18] .

Además del historial de gravidez, la transfusión de sangre o sus derivados aumenta el riesgo de aloinmunización, siendo mayor en pacientes que reciben transfusión de plaquetas (produciendo ocasionalmente refractariedad plaquetaria)[20] en comparación con los que reciben eritrocitos[21], pese a que los eritrocitos expresan niveles bajos de moléculas HLA clase I, si estos se trasfunden en gran cantidad como terapia en hemoglobinopatías o con malignidades hematológicas indolentes, pueden producir alosensibilización contra esta clase de antígenos[5,18,22]. Estudios han demostrado que niveles de 5 $x10^6$ leucocitos en unidades de hemocomponentes como concentrados plaquetarios, concentrado de eritrocitos o sangre total pueden asociarse a aloinmunización[9].

Estos anticuerpos anti-HLA preformados específicos contra el donador pueden ser causantes de fallo del injerto en el 5% de los casos[18], o de rechazo rápido del injerto en trasplante de médula ósea en cuestión de horas, mientras que el mecanismo celular de rechazo puede tardar mucho más tiempo[5,12].

1.4 Falla del injerto

Una pobre función del injerto puede conllevar a la necesidad de un segundo trasplante para recuperar por completo la hematopoyesis del paciente, lo cual se asocia a unos altos niveles de mortalidad por complicaciones infecciosas o a una ausencia del efecto injerto contra tumor[5].

La incidencia del falla primaria del injerto va del 2 al 15% en pacientes que se someten a trasplante de progenitores hematopoyéticos, lo que representa un problema que contribuye a la morbilidad y mortalidad post trasplante (Tabla 1)[4].

Tabla 1. Antecedentes de estudios sobre el impacto de DSA en diferentes contextos del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas

Referencia	Pacientes (n)	Umbral DSA	%DSA	Fallo del injerto con vs- sin DSA
Spellman et al.[18]	115	ND	9	24 vs. 1%
Ciurea et al.[23]	592	>500	1.4	37.5 vs. 2.7%
Yoshihara et al.[13]	79	>5000	14	27 vs. 3%
Ciurea et al.[23]	24	>500	21	60 vs. 5%
Chang et al.[4]	345	>2000	11.3	61 vs. 3.2%
Ciurea et al.[23]	122	>500	18	32 vs. 4%
Takanashi et al.[24]	386	>1000	5	82 vs. 32%
Cutler et al.[25]	73	>1000	24	57 vs. 5.5%
Ruggeri et al.[26]	294	>1000	5	81 vs. 44%
Yamamoto et al.[27]	175	>2000	ND	50 vs. 16%

Nota. ND= no disponible
Adaptado de Morin-Zorman S, Loiseau P, Taupin JL, Caillat-Zucman S. Donor-specific anti-HLA antibodies in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Front Immunol. 2016;7(8):1-6.

El pobre funcionamiento del injerto puede ser estudiado de mejor manera con la identificación de anticuerpos anti-HLA específicos contra el donador, ya que en su mayoría se debe a estos anticuerpos que impiden que injerte de forma correcta[16], siendo de mayor relevancia en trasplantes haploidénticos, ya que es probable que el paciente los haya generado en exposiciones previas a los antígenos HLA, siendo estos eventos que predisponen a la sensibilización del receptor[5].

El fallo en el injerto se define de acuerdo a los lineamientos de cada comité de trasplantes, pero en general se presenta como retraso en el injerto de la línea mieloide y plaquetaria evidenciado con cuentas absolutas bajas de neutrófilos y plaquetas y un quimerismo incompleto, alrededor de los 20 a 30 días posteriores al trasplante[2,4,18].

1.5 Otras causas de fracaso en el injerto de células hematopoyéticas

El pobre funcionamiento del injerto pude ser el resultado de una recuperación incompleta de células sanguíneas (falla primaria del injerto), o que disminuyan las cifras celulares posterior a un injerto exitoso (falla secundaria del injerto)[3].

Existen factores que afectan el prendimiento del injerto, no sólo en trasplantes haploidénticos, sino en todo tipo de trasplante, como[3,5]:

- Enfermedad de injerto contra huésped (EICH)
- Medicamentos mielosupresores/mielotóxicos (ganciclovir, linezolid, trimetroprima/sulfametoxazol)
- Infecciones virales (CMV, HHV6)
- Sepsis bacteriana
- Incompatibilidad mayor en grupo sanguíneo ABO (Tabla 2)
- Esquema de acondicionamiento no mieloablativo o de intensidad reducida (RIC) en trasplantes de médula ósea[28]

Además, se ha observado que en grupos donde se presenta fallo del injerto recibieron mayores dosis de células CD34+ en comparación con los pacientes con injerto exitoso[7].

Tabla 2. Incompatibilidad en el sistema AB0 en trasplante de células progenitoras.

Incompatibilidad mayor		Incompatibilidad menor		Incompatibilidad mixta (mayor y menor)	
Grupo del receptor	Grupo del donante de las CPr	Grupo del receptor	Grupo del donante de las CPr	Grupo del receptor	Grupo del donante de las CPr
0	A, B o AB	A, B, o AB	0	A, B, o AB	0
A	B o AB	A o AB	B	A	B
B	A o AB	B o AB	A	B	A

Nota. Adaptado de la NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.[29]

1.6 Estrategias de manejo para pacientes sensibilizados

La información sobre la reducción de los niveles de anticuerpos anti-HLA en el receptor continúa emergiendo; se recomienda el estudio continuo del tema para refinar las estrategias de manejo de los pacientes sensibilizados[6].

La estrategia más frecuente se centra en la depleción de linfocitos B con rituximab (anti-CD20) [30] y recambio plasmático, en ocasiones combinado con altas dosis de inmunoglobulina intravenosa o infusión de linfocitos irradiados del donador, además del uso de bortezomib asociado a dexametasona [2] .

1.7 Determinación de anticuerpos anti-HLA específicos contra el donador

A lo largo de la historia del TCH se han desarrollado métodos para el cribado pre trasplante y la tipificación de los anticuerpos peri trasplante en el receptor[5].

El estándar de oro en las pruebas de histocompatibilidad fue la prueba de linfotoxicidad dependiente de complemento (CDC), de Terasaki y Patel[31], la cual detecta anticuerpos que son activados por complemento, provocando la

lisis de linfocitos, prediciendo así un rechazo hiperagudo, pese a su poca especificidad para determinar si los anticuerpos son o no anti HLA[5].

Además de esta, a partir de mediados de 1990 comienzan a realizarse inmunoensayos en fase sólida, donde se emplean moléculas de HLA recombinanates adsorbidas a una matriz sólida, la cual puede ser una microplaca de titulación para ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA)[32] o perlas de poliestireno para ensayos multiplex en instrumentos de citometría de flujo[33] convencionales o en fluoroanalizador LABScan de la plataforma Luminex[34,35].

Además de indicar la presencia o ausencia de anticuerpos anti HLA, las pruebas en fase sólida proporcionan información semi cuantitativa acerca de la capacidad de unión del complejo antígeno-anticuerpo, expresada en valores de ratios de densidad óptica en ELISA, median channel shift (MCS) en citometría de flujo (FCXM) y valores de MFI en Luminex, siendo esta última técnica la prueba más sensible en la detección de títulos más bajos de anticuerpos; esta prueba puede hacerse de manera rutinaria en laboratorios de histocompatibilidad ya que no depende de la viabilidad de las células del donador y sólo requiere del suero del receptor [5,9,13,35–37].

Las demás técnicas en fase sólida fueron rápidamente reemplazadas por ensayos de multiplex con perlas en la plataforma Luminex, que ofrece mayor sensibilidad, especificidad, tiempos cortos de análisis y eficiencia por cada muestra[37].

La detección de anticuerpos anti-HLA específicos contra el donador y la semi cuantificación en MFI obtenida de ensayos en fase sólida ha mostrado tener un rol predictivo en resultados poco favorables, como rechazo mediado por anticuerpos y pobre sobrevida del injerto, aun cuando no se obtenga una prueba positiva por CDC o FCXM[36].

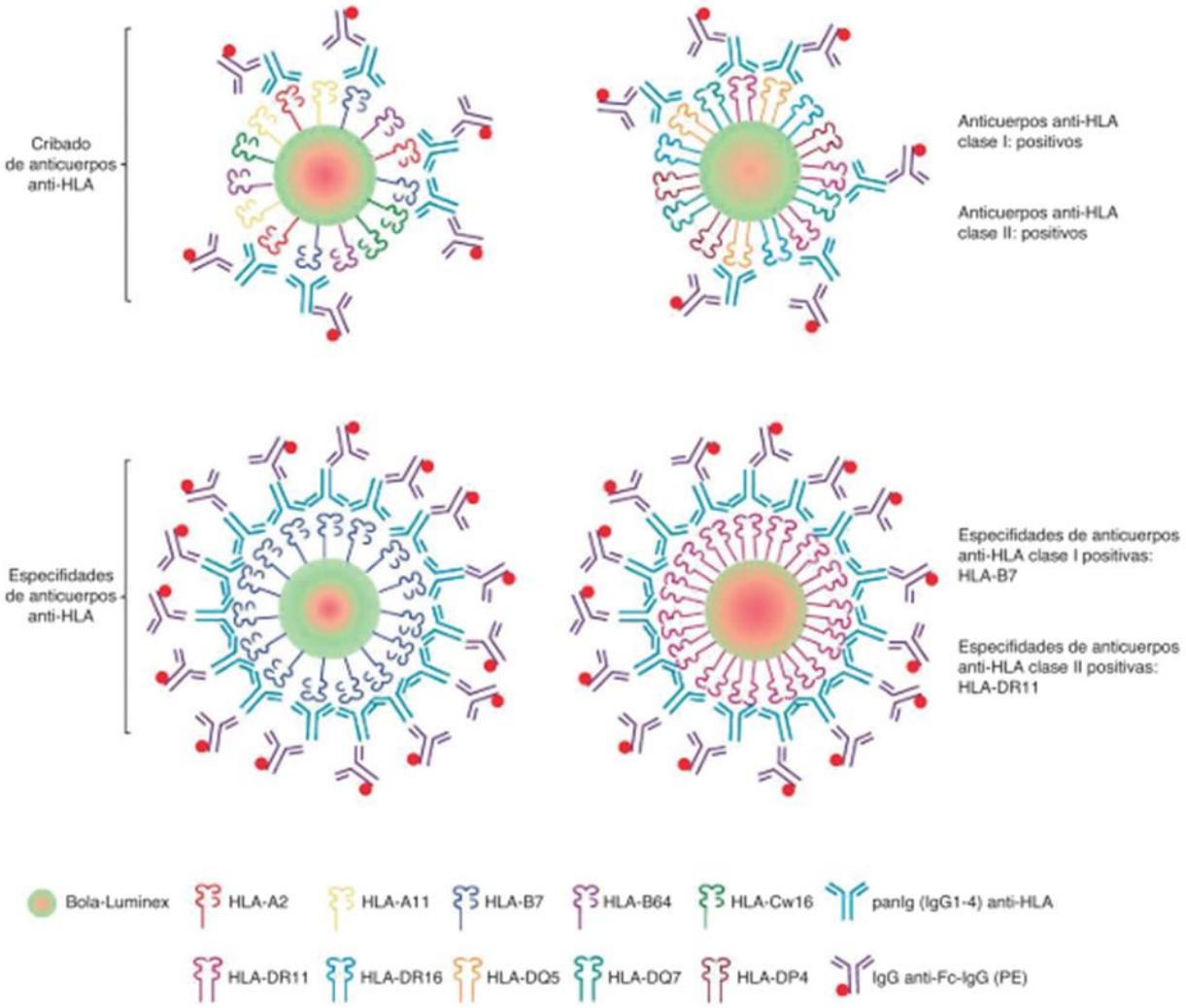
Las perlas utilizadas en la plataforma Luminex están cubiertas con proteínas (antígenos) HLA solubles como blanco para los anticuerpos[37].

Los kits están diseñados en tres formatos[37]:

- Cribado de anticuerpos con perlas recubiertas de pool de antígenos de múltiples líneas celulares.
- Panel Reactivo de Anticuerpos o PRA, conformado por fenotipos individuales para clase I y II de HLA; este y el anterior mencionado sirven para detectar la presencia o ausencia de anticuerpos o el cambio en los niveles de estos, y la identificación de la especificidad del epítope. (Figura 3)
- Paneles de antígenos HLA de clase I o II, donde cada población de perlas está recubierta con múltiples copias del mismo antígeno recombinante (*SAB)*, empleados en la evaluación de la especificidad y nivel de los anticuerpos. (Figura 3)

Estos ensayos incluyen en las perlas los alelos del sistema HLA, como lo son los locus: HLA-A, HLA-B, HLA- C, HLA-DRB1, HLA-DRB3, HLA-DRB4, HLA-DRB5, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1, y HLA-DPB1.

Figura 3. Diseño de perlas para el cribado y especificidad de anticuerpos anti-HLA



Nota. Adaptada de Molina J, Navas A, Agüera ML, Benot AR. Avances en inmunología del trasplante renal. *Rev Nefrol*. 2018;Vol. 10(2):11-19.

En este tipo de ensayos es difícil determinar la especificidad de los anticuerpos anti-HLA en pacientes altamente sensibilizados empleando un panel con múltiples antígenos por perla representando un fenotipo completo para HLA clase I o clase II, como los paneles empleados para la determinación de PRA, que tienen utilidad en determinar el grado de sensibilización contra antígenos HLA en un candidato a trasplante y así predecir el resultado de una prueba cruzada, pero su utilidad depende de la sensibilidad y la composición del panel de cada kit[33,38].

1.8 Inmunoensayo en la plataforma Luminex

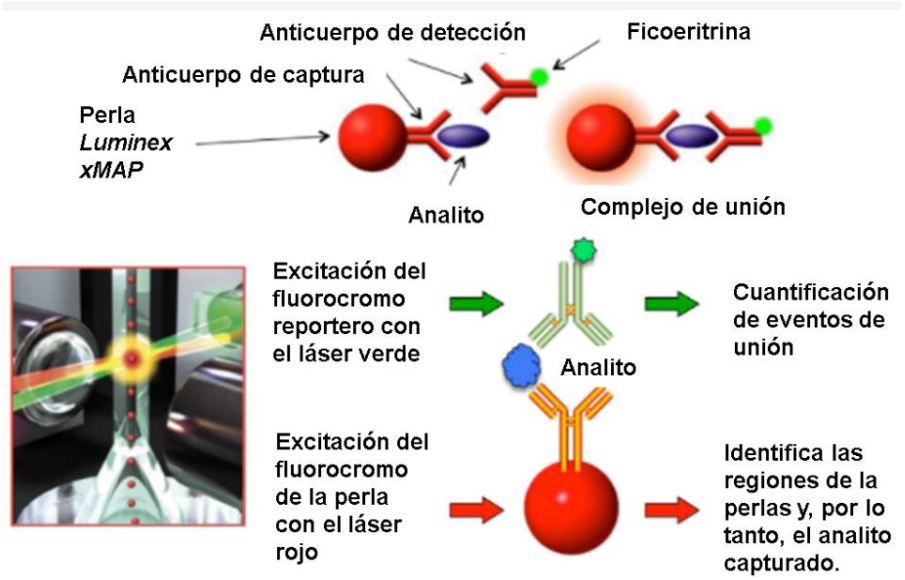
El análisis para la búsqueda de DSA se realiza mediante la comparación de la tipificación HLA del donador en alta resolución y los resultados de MFI obtenidos por SAB en la plataforma Luminex, interpretados y normalizados según indicaciones de cada fabricante[7,37] .

La prueba de DSA para identificar anticuerpos anti-HLA se lleva a cabo en el fluoroanalizador LABScan de la plataforma Luminex, que cuenta con la tecnología xMAP, permitiendo el análisis de muestras por "multiplexeo" (prueba con múltiples analitos en la misma reacción, utilizando el mismo volumen de muestra), empleando perlas de poliestireno marcadas con fluorocromos para identificar el analito, como de la fase sólida del ensayo, permitiendo la identificación de la perla al ser excitado por el láser rojo, posteriormente el láser verde excita el fluorocromo reportero para determinar el resultado del ensayo (láser reportero de 532nm y láser clasificador de 635 nm)[39] (Figura 4).

Las perlas empleadas tienen medidas de 6.5 micras con centro magnético y superficie de poliestireno. Internamente son teñidas con cantidades específicas de fluorocromos rojo e infrarrojo, resultando en un espectro de 100 diferentes perlas, identificadas por el sistema de láseres antes descrito, lo que permite el análisis por "multiplexeo" [39]**.** (Figura 5)

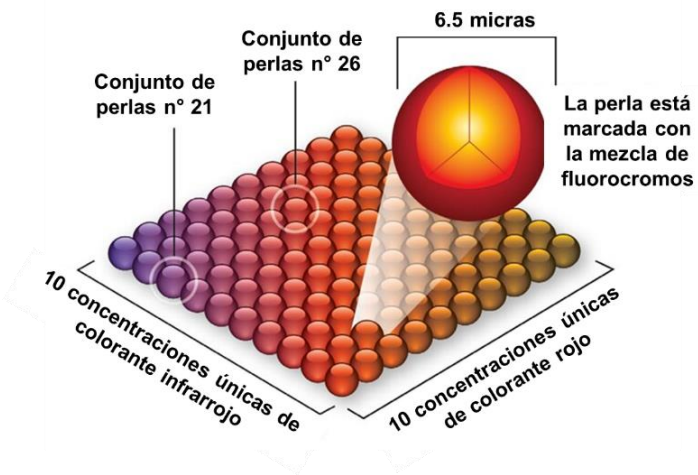
El principio del procedimiento se basa en incubar una alícuota de las perlas con un pequeño volumen de la muestra de suero problema. Después se lavan las perlas sensibilizadas para eliminar los anticuerpos que no se hayan fijado. Se añade luego un anticuerpo anti-IgG humana conjugado con ficoeritrina. Tras otra incubación, se diluye la muestra problema y se analiza. Se compara la intensidad de la señal emitida por cada microesfera con la de la microesfera específica del locus de más baja calificación incluida en la preparación, para determinar si aquella es positiva o negativa en cuanto al aloanticuerpo unido[40]. (Figura 6)

Figura 4. Visión general del inmunoensayo por Luminex xMAP



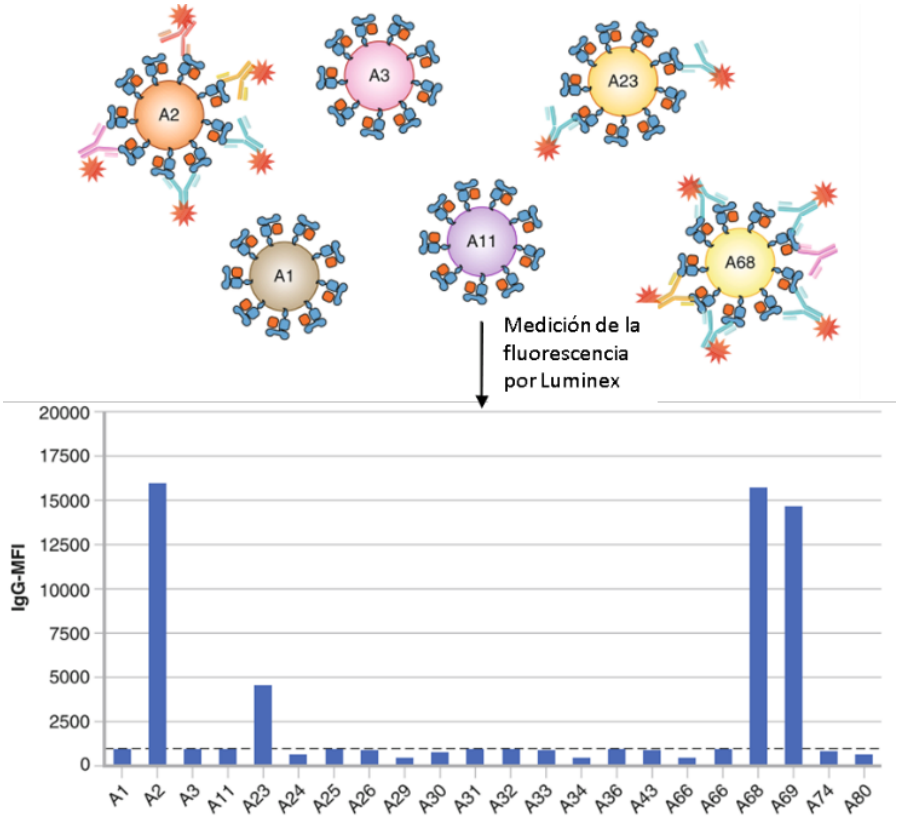
Nota. Adaptado de Thermo Fisher Scientific. Luminex platform technology. Published 2022. https://www.thermofisher.com/mx/.../features.html#xmap-technology

Figura 5. Esquema del diseño de las perlas Luminex



Nota. Adaptado de Thermo Fisher Scientific. Luminex platform technology. Published 2022. https://www.thermofisher.com/mx/.../features.html#xmap-technology

Figura 6. Determinación semi cuantitativa de anticuerpos anti-HLA por Luminex



Nota. El histograma muestra la unión de anticuerpo en los antígenos A2 y A68 a aproximadamente 15000 MFI y a A23 a aproximadamente 5000 MFI. Adaptada de Zhang Q, Hickey MJ, Valenzuela NM, et al. Practical Atlas of Transplant Pathology. *Pract Atlas Transpl Pathol.* Published online 2016.

1.8.1 Interferencias con la prueba

Pueden presentarse diferencias en los valores de MFI derivados de la naturaleza del ensayo multiplex ya que puede variar por la naturaleza de los antígenos presentes en las perlas (nativos o recombinantes), variaciones entre lotes[41], entre marcas de kit comerciales (One Lambda vs. Immucor), así como variaciones en el personal técnico [5,36].

Una desventaja de la prueba es la densidad de moléculas HLA presentes en las perlas y los diversos factores que pueden llevar a un bloqueo antigénico, disminuyendo la disponibilidad de estos antígenos para formar complejos con los anticuerpos presentes en la muestra de suero[5].

Otra limitante es el efecto prozona, que suele enmascarar los resultados, produciendo falsos negativos cuando existe un exceso de anticuerpos en pacientes altamente sensibilizados o en el caso de que se presente una unión de complejo de complemento C1qrs y C3d, bloqueando la unión del anticuerpo marcado con ficoeritrina. Este efecto puede ser demostrado mediante la realización de la prueba con diluciones del suero, donde se observarán valores fuertemente positivos[5,36] .

Para reducir la interferencia de anticuerpos IgM se han creado protocolos para tratar el suero con agentes que desnaturalicen este isotipo, como con DTT o con EDTA, dejando sólo disponible para la reacción a los anticuerpos de clase IgG[5,36,42].

De igual forma, la desnaturalización o un plegamiento incorrecto de las moléculas HLA presentes en las perlas puede enmascarar un resultado debido a que no están inmunológicamente accesibles a los anticuerpos, o a exponer epítopes “crípticos” no expresados de forma natural en las células, lo que puede llevar a un resultado falso positivo[43]; esto puede deberse a un mal diseño del kit o a un manejo fuera de las especificaciones del proveedor[2,36,37].

El uso de anticuerpos monoclonales humanizados (rituximab, alemtuzumab) o ATG como tratamiento peri trasplante puede interferir en los métodos clásicos de prueba cruzada, reaccionando con los linfocitos del paciente, modificando la sensibilidad y especificidad de la prueba[7] .

2 ANTECEDENTES

2.1.1 Punto de corte y umbral significativo en MFI para DSA

Los ensayos basados en perlas *SAB* proveen de un enfoque práctico y específico y sensible, ya que contienen una mayor densidad del antígeno específico en comparación con las empleadas en PRA[36] para la evaluación del riesgo de rechazo del injerto mediado por anticuerpos a través de la prueba cruzada virtual (VXM), buscando cuales de estos anticuerpos presentes son específicos contra los antígenos del potencial donador[7,35,36] .

Las decisiones clínicas se basan en umbrales determinados de MFI como puntos decisivos pre trasplante, empleándolos en la predicción de la prueba cruzada, y para monitorear el rechazo agudo mediado por anticuerpos; pese a su gran importancia, no existe un consenso sobre los niveles relevantes de DSA[2,36] .

El reporte de la actividad de anticuerpos anti HLA como valores MFI puede llevar a una percepción errónea sobre su “fuerza” o título, este último definido como la medida en que un anticuerpo se puede diluir antes de perder su capacidad de reaccionar con un antígeno específico[36], ya que en algunas ocasiones se puede relacionar los valores altos de MFI con la presencia de anticuerpos clínicamente relevantes en el rechazo y niveles bajos con anticuerpos poco relevantes; además, si la determinación de un anticuerpo específico aumenta de 2000 a 4000 MFI en un mes, no significa necesariamente que los niveles de anticuerpo se hayan duplicado[36,37].

La interpretación se debe basar en que los valores de MFI proveen de una aproximación relativa de la concentración de anticuerpos anti HLA, más no necesariamente de la cantidad total presente en suero[44].

Se considera que una prueba es positiva cuando se obtienen valores de DSA >1000 MFI, sin embargo este punto de corte puede variar entre los diferentes centros de investigación para trasplantes (Tabla 1)[3,5,36].

Ha sido documentado que el pobre funcionamiento del injerto, así como el rechazo mediado por anticuerpos, se acentúa cuando los valores de MFI se encuentran por encima de los 5000[3,12,13].

Debido a que el rechazo es definido según cada programa de trasplantes en las diferentes instituciones, tipos de pacientes trasplantados, tipo de trasplante, se recomienda a los Comités de Trasplantes establecer este umbral considerando diferentes variables, por lo que cada institución debe establecer su consenso[36]. Según la guía consenso para la detección y tratamiento de DSA en trasplantes de células hematopoyéticas de la Sociedad Europea para el Trasplante de Sangre y Médula Ósea (EBMT) [5] se recomienda la validación y estandarización de los ensayos para la detección de DSA, incluyendo el punto de corte o *cutoff* para los MFI.

Es importante considerar que los valores de punto de corte pueden variar según el locus HLA estudiado, por ejemplo en el departamento de Patología del Hospital Universitario de Emory, donde se utiliza un umbral más alto para los anticuerpos anti HLA-C (5000 MFI), en comparación contra los locus A y B (2000 MFI)[36], debido a que la expresión antigénica es más baja para el locus HLA-C[45].

La evaluación de la reactividad de valores de MFI contra ciertos antígenos HLA debe ser minuciosa ya que estos están compuestos de múltiples epítopes, por lo que un anticuerpo puede reconocer una secuencia específica de aminoácidos presente en diversos antígenos, de lo cual deriva el concepto serológico CREGs[46] o Grupos con Reactividad Cruzada (*Cross-reactive Groups*) [36,37].

Para definir si los anticuerpos que participan en la reacción con perlas SAB fijan en realidad complemento, cualidad que los hace clínicamente relevantes, además de la prueba CDC, se ha optado por realizar el análisis con reactivo C1q previo a la reacción de marcaje con ficoeritrina; los resultados positivos

con esta prueba se asocian a un rechazo agudo del injerto y C3d a un riesgo de pérdida del injerto[12,47,36].

3 JUSTIFICACIÓN

Antes de un trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas es necesario conocer el umbral de anticuerpos anti-HLA del receptor, expresado en MFI, a partir del cual se pueden observar resultados adversos.

4 HIPÓTESIS

La presencia de anticuerpos anti-HLA específicos contra el donador para los antígenos HLA-A, HLA-B, HLA-C y HLA-DRB1 en un valor igual o mayor a 500 MFI antes del trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas se asocia a efectos clínicos adversos.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Establecer el umbral de MFI significativo de anticuerpos anti-HLA específicos contra antígenos del donador en receptores de un trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas que tenga correlación con los resultados clínicos, y determinar su relevancia para la toma de decisiones clínicas.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar los valores de MFI de anticuerpos del receptor contra antígenos HLA-A, -B, -C y –DRB1 del donador y su asociación con los días para prendimiento del injerto.
- Determinar si existe relación entre el nivel de MFI de anticuerpos anti-HLA y el desarrollo de EICH y/u otros eventos adversos.
- Establecer si existe relación significativa entre la mortalidad post TCH haploidéntico en presencia de anticuerpos anti-HLA del donador.

6 DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

6.1 Diseño metodológico

Se analizaron retrospectivamente los registros médicos de pacientes, que acudieron al Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, identificados como población hispana mestiza, con enfermedades malignas o síndromes hematológicos no malignos sometidos a su primer y único trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas a partir de sangre periférica movilizada recolectada por aféresis, en el periodo de junio del 2017 a diciembre del 2020, que cuentan con la prueba para la búsqueda de anticuerpos anti-HLA específicos contra antígenos HLA del donador previa al trasplante.

6.2 Consideraciones éticas

La prueba para la búsqueda de DSA, así como los procedimientos y exámenes para diagnóstico, tratamiento, seguimiento y control de los sujetos, fueron realizados con anterioridad en el Servicio de Hematología; toda la información necesaria se recabó de los expedientes clínicos de los pacientes y de la base de datos electrónica del Servicio, por lo que no se hicieron intervenciones en los sujetos para la realización de este protocolo.

6.3 Confidencialidad de la información

No se utilizaron nombres de los sujetos incluidos en el estudio; se mantuvo la confidencialidad de datos personales al utilizar un número de registro, asignado para identificar a cada sujeto durante la realización del protocolo.

Se siguieron los protocolos de protección del expediente clínico establecidos por el Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, donde se establece que el acceso a la información sólo al personal autorizado.

6.4 Tamaño de la muestra y técnica de muestreo

Para la realización de este estudio se realizó el cálculo de tamaño de muestra utilizando la fórmula de estimación de una proporción en una población

infinita[48] donde se necesitarían 385 sujetos con una precisión del 5%, un nivel de significancia a dos colas del 5%, y un poder de 97.5%.

Sin embargo, por disponibilidad del departamento, se realizó un estudio exploratorio donde se incluyen los registros del total de los pacientes que recibieron trasplante haploidéntico relacionado de células hematopoyéticas cuya determinación de anticuerpos específicos anti-HLA haya sido llevado a cabo en el Laboratorio de Medicina Molecular en el Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, dando un total de 70 registros. Por ende, el muestreo es realizado es por conveniencia.

6.5 Criterios de inclusión

- Pacientes de cualquier edad y sexo.
- Pacientes que se hayan sometido a trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas obtenidas de la sangre periférica por leucoféresis.
- Pacientes con diagnóstico de enfermedad hematológica maligna o benigna.
- Pacientes que hayan recibido el trasplante haploidéntico de familiares directos, como padre, madre o hermanos.
- Que la compatibilidad de antígenos HLA-A, -B, -C y –DRB1 entre donador y receptor sea haploidéntica (4/8).
- Pacientes a los que se haya realizado la determinación de anticuerpos anti-HLA previo al trasplante.
- Pacientes con un único trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el periodo a analizar.

6.6 Criterios de exclusión

- Pacientes que hayan recibido un trasplante alogénico idéntico (antígenos HLA compatibles 8/8).
- Pacientes a los que se haya sometido a trasplante haploidéntico y que no se les haya realizado la determinación de anticuerpos anti-HLA previamente.

- Pacientes que se hayan sometido a más de un trasplante de células hematopoyéticas.

6.7 Criterios de eliminación

- No aplica

7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores de MFI para los anticuerpos anti- HLA-A, -B, -C y –DRB1 se obtuvieron de la base de datos del software de análisis MatchIT!, que a la vez se integraron en una base de datos en el programa Excel 2019 v 19.0. Los DSA se seleccionaron tomando en cuenta el perfil de HLA del donador para HLA-A, -B, -C y –DRB1, y se registró su valor en MFI.

Los receptores se considerarán dentro del grupo DSA-positivos cuando se obtenga un valor igual o mayor a 500 MFI para cada locus HLA analizado individualmente; para el grupo control se considerará DSA-negativos cuando se obtenga un valor menor a 500 MFI.

7.1 Variables por estudiar

Para fines de este estudio se tomaron como fuente los registros de ingreso y del expediente clínico de cada sujeto, realizados con anterioridad por el médico, basado en el criterio clínico y en los estudios complementarios con fines de diagnóstico, tratamiento, seguimiento.

Se colectaron registros de los pacientes y donadores, como la tipificación de antígenos HLA por mediana resolución (Luminex) y alta resolución (secuenciación Sanger *SBT*), el diagnóstico hematológico, estado de la enfermedad al momento del trasplante, el esquema de acondicionamiento recibido previo al trasplante, si se sometió a un esquema de desensibilización previo al trasplante, dosis de células CD34+ infundidas, compatibilidad ABO. Además de datos clínicos como la aparición de síndrome de liberación de citocinas, enfermedad de injerto contra huésped (EICH) y muerte en los primeros 100 días, entre otras variables relevantes.

7.2 Consideraciones para la evaluación del injerto

El porcentaje de quimerismo a los días +30 y +100 posteriores al trasplante por la técnica de electroforesis capilar para el análisis de STR en parejas donador-receptor del mismo sexo y cromosomas X y Y por la técnica de FISH para donador-receptor de diferente sexo (el quimerismo completo es definido

cuando por lo menos el 95% de las células del donador están presentes; el quimerismo mixto se considera cuando se encuentran 5% o más células del donador).[3]

Para considerar que el trasplante fue exitoso (sin rechazo) se consideraron los días de recuperación mieloide y recuperación plaquetaria (la cuenta absoluta de neutrófilos deberá ser igual o mayor a 500/ µl por dos días consecutivos y la cuenta de plaquetas igual o mayor a 20000/ µl por dos días consecutivos y por lo menos 7 días después de la última transfusión plaquetaria), además del porcentaje de quimerismo.[3]

7.3 Diseño estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de las características de los pacientes. Las variables continuas (numéricas) se describieron como, mediana y rango intercuartil[3,12], previa valoración de la normalidad de la distribución de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para las variables categóricas se analizaron frecuencias y porcentajes[3,12], además de la asociación entre grupos con la prueba exacta de Fisher o prueba de chi cuadrada de Pearson[3,12,13,49]. Para el cálculo de las diferencias entre variables y para comparar datos de ambos grupos se usó la prueba de Mann-Whitney[12,50].-Un valor de $P<0.05$ se consideró estadísticamente significativo[13]. El análisis estadístico se realizó en el software IBM SPSS Statistics para Windows v. 25.0 (IBM Corp. Armonk, NY).

8 RESULTADOS

8.1 Características de los pacientes

Se analizó la información obtenida de 70 parejas de paciente/donador, que recibieron TCH movilizadas y recolectadas por aféresis (sangre periférica movilizada) con HLA haploidéntico, contenida en expedientes y notas clínicas de la institución, que corresponden al periodo de junio del 2017 a diciembre del 2020, los cuales cumplen con los criterios de inclusión antes mencionados.

Las características de los pacientes de la cohorte son descritas en la Tabla 3. 38 pacientes (54.3%) sometidos a TCH son de sexo masculino. La mediana de edad de estos pacientes es de 32 años (15-38).

La Leucemia Linfoblástica Aguda de células B es el diagnóstico con mayor prevalencia, siendo 27 pacientes (38.6%), seguido de la Leucemia Mieloide Aguda con 16 pacientes (22.9%).

El estado de la enfermedad era “activa” en 31 pacientes (44.3%), 18 se encontraban en la primera remisión (25.7%), 13 en la segunda remisión (18.6%) y 8 pacientes se encontraban refractarios a tratamiento (11.4%).

En cuanto a eventos sensibilizantes a los que los pacientes fueron expuestos previo al TCH, se encontró que 39 pacientes (55.7%) recibieron paquetes globulares, 24 (34.3%) recibió concentrados plaquetarios y 15 pacientes (21.4%) aféresis plaquetarias. El 17.1% tuvo embarazos previos al TCH.

En el 75% de los pacientes se encontraron anticuerpos IgG contra CMV positivos.

Tabla 3. Características de los receptores TCH haploidéntico.	
Variable	
Sexo del receptor	-
Masculino	38 (54.3%)
Femenino	32 (45.7%)
Edad del receptor	23 (15-38)
Diagnóstico	-
LLA-B	27 (38.6%)
LLA-T	2 (2.9%)
LNH	5 (7.1%)
LH	5 (7.1%)
LMC	2 (2.9%)
LMA	16 (22.9%)
SMD	4 (5.7%)
AA	6 (8.6%)
LLC	1 (1.4%)
Mielofibrosis	1 (1.4%)
Síndrome de hiper IgM	1 (1.4%)
Estado de la enfermedad	-
Activa	31 (44.3%)
Primera remisión	18 (25.7%)
Segunda remisión	13 (18.6%)
Refractaria	8 (11.4%)
Requerimientos transfusionales pre TCH	
Paquetes globulares	39 (55.7%)
Concentrados plaquetarios	24 (34.3%)
Aféresis plaquetarias	15 (21.4%)
Antecedente de embarazo	12 (17.1%)
CMV IgG positivos (n=24)	18 (75%)
Desensibilización previa a TCH por DSA	7 (10.0%)

Nota. Abreviaciones: *LLA-B* Leucemia linfoblástica aguda de células B, *LLA-T* Leucemia linfoblástica aguda de células T, *LNH* Linfoma no Hodgkin, *LH* Linfoma de Hodgkin, *LMC* Leucemia mieloide crónica, *LMA* Leucemia mieloblástica aguda, *SMD* Síndrome mielodisplásico, *AA* Anemia aplásica, *LLC* Leucemia linfoide crónica.

8.2 Características de los donadores

Las características de los donadores son descritas en la Tabla 4. El 58.6% de los donadores son de sexo masculino. La mediana de edad es de 32 años (24-43).

El 42.9% tiene una relación de parentesco con el donador de hermano(a), el 38.6% de padre/madre y el 18.6% de hijo(a). Existe una discrepancia de sexo entre donador-receptor en 29 casos, siendo en 13 casos (18.6%) donador femenino a receptor masculino y en 16 casos de donador masculino a paciente femenino (22.9%).

Se encontró que el 72.9% de los casos eran ABO compatibles las parejas donador-receptor. En el 8.6% se encontró una incompatibilidad mayor.

Tabla 4. Características de los donadores	
Variable	
Sexo del donador	-
Femenino	29 (41.4%)
Masculino	41 (58.6%)
Edad del donador	32 (24-43)
Parentesco del donador	-
Hermano/a	30 (42.9%)
Hijo/a	13 (18.6%)
Padre/madre	27 (38.6%)
Sexo donador-receptor	-
Femenino-femenino	16 (22.9%)
Femenino-masculino	13 (18.6%)
Masculino-femenino	16 (22.9%)
Masculino-masculino	25 (35.7%)

8.3 Determinación de DSA

Se realizó una VXM donde, empleando el HLA del donador, se buscaron los valores de anti-HLA obtenidos contra cada una de las proteínas de los dos alelos, tomando el valor mayor de ambos para la estadística de DSA para HLA-A, -B, -C y -DRB1.

En los casos donde se presentaron ambigüedades en la determinación de HLA del donador, se tomó el HLA más común, que es el que se encuentra reportado en primer lugar, o el alelo que se compartía con el paciente cuando este no presentaba ambigüedad.

En la Tabla 5 se describen las distribuciones de los valores de MFI encontrados en los pacientes para anticuerpos anti HLA-A, -B, -C y -DRB1 donador específicos (DSA) previos al TCH.

Tabla 5. Distribución de intensidades MFI para los DSA	
Variable	
MFI anti HLA	-
HLA-A	148 (102.3-231.7)
HLA-B	186 (114.7-284.2)
HLA-C	229 (159.7-332.5)
HLA-DR	113 (62.5-215.7)

En 13 casos se encontraron niveles mayores a 500 MFI para los diferentes antígenos analizados, descritos en la Tabla 6.

Tabla 6. Pacientes con DSA >500 MFI				
Paciente n°	**DSA anti HLA-A**	**DSA anti HLA-B**	**DSA anti HLA-C**	**DSA anti HLA-DRB1**
1	-	-	-	4853
27	-	848	-	-
28	634	874	903	-
31	-	-	600	-
34	-	-	538	616
35	-	626	-	-
36	-	-	721	-
37	1125	1033	-	-
40	712	714	990	-
48	-	-	-	8714
52	-	-	592	-
56	-	-	-	1219
64	-	924	-	556

De los 13 casos DSA positivos, 6 (46.2%) son hombres y 7 (53.8%) son mujeres.

En 35 casos (50%) no fue posible la determinación de los niveles de anti-HLA dirigidos específicamente contra el HLA del donador (DSA) en al menos un alelo, ya que estos antígenos específicos no son incluidos en el kit comercial empleado en la determinación, así que se tomó el valor del antígeno o proteína HLA del que sí se obtuvo un valor de MFI.

En 10 casos no se pudo determinar los valores de MFI contra ambos antígenos en los diferentes locus incluidos. Lo anterior está descrito en la Tabla 7.

Los antígenos HLA que no se incluyen dentro del kit comercial, que corresponden a la tipificación de los donadores y la cantidad de casos (entre corchetes) en los que se encontraron son: HLA-A 02:04 [1], 02:06 [5], 68:03 [1], 68:05 [2], 68:07 [1]; HLA-B 35:02 [1], 35:12 [2], 35:16 [1], 35:17[3], 35:43 [1], 39:05[2], 39:06 [2], 40:08 [3]; HLA-C 03:05 [1], 03:06 [1], 04:08 [1], 12:03 [2]; HLA-DRB1 04:07 [9], 04:11[4], 08:02 [1] siendo la única excepción ya que sólo en ese lote del 2017 no se incluyó, 08:03 [1], 11:02 [2], 13:02 [1], 13:04 [1], 14:02 [3] 14:06 [8], 14:07 [2], 15:03 [1].

Tabla 7. Antígenos HLA no incluidos en el kit comercial para detección de DSA

Donador n°	HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1
1	-	-	-	14:07
2	-	-	-	13:02/ 15:03*
3	-	-	-	08:02
4	-	-	-	04:11/ 14:06*
9	-	-	-	11:02
13	-	-	-	04:07
15	-	-	-	04:11
17	-	-	-	14:06
18	-	-	-	14:07
21	-	-	-	08:03
26	-	-	-	04:07

33	02:04	-	03:05/ 03:05*	04:07/ 04:07*
34	-	-	08:04	-
35	68:07	-	-	14:06
40	68:03	35:43	-	04:07
42	-	35:17	-	-
43	-	-	12:03	-
44	02:06	39:06/ 39:06*	-	-
45	-	35:17	-	-
46	-	40:08	-	14:06
48	-	-	-	04:07
52	02:06	-	-	-
54	02:06	-	-	-
55	-	-	12:03	-
57	68:05	35:12/ 48:08*	-	04:07/ 14:02*
58	-	40:08	-	14:02/ 14:06*
59	-	39:06	-	14:06
60	02:06	39:05	03:06	04:11/ 14:02*
61	68:05	35:12/ 40:08*	-	04:07
62	-	35:16	-	11:02/ 14:06*
63	02:06	35:02/ 39:05*	-	04:07/ 04:11*
65	-	-	-	14:06
68	-	-	-	04:07
69	-	-	-	13:04
70	-	35:17	-	-

Nota. *= no se incluyen los antígenos de ambos alelos HLA del donador

Se buscó en la base de datos Allele Frequency Net Database (www.allelefrequencies.net) la frecuencia estos antígenos HLA población mexicana (Ciudad de México) ausentes en el kit. Tabla 8.

Tabla 8. Antígenos no representados en el kit y su frecuencia en la población mexicana		
Proteína	**Frecuencia alélica en población mexicana**	**n=**
HLA-A		
02:04	0.0050	103
02:06	0.0962	234
68:03	0.0342	234
68:05	0.0064	234
68:07	No reportado	-
HLA-B		
35:02	0.0043	234
35:12	0.0385	234
35:16	0.0064	234
35:17	0.0385	234
35:43	0.0192	234
39:05	0.0791	234
39:06	0.0684	234
40:08	0.0034	439
HLA-C		
03:05	0.0342	234
03:06	0.025	20
04:08	No reportado	-
12:03	0.0256	234
HLA-DRB1		
04:07	0.1175	234
04:11	0.0192	234
08:02*	0.1944	234
08:03	0.0021	234
11:02	0.0085	234
13:02	0.0214	234
13:04	0.0021	234
14:02	0.0235	234
14:06	0.1004	234
14:07	0.0000	40
15:03	0.0021	234

Debido a la cantidad de antígenos que no se encuentran representados en el kit comercial, se realizó un análisis donde se relaciona los alelos con mayor frecuencia alélica en la población mestiza mexicana en una urbe como lo es la CDMX en una muestra de 234 individuos no relacionados Tabla 9.

Tabla 9. Frecuencias alélicas en 234 mexicanos y representación en la detección de DSA

HLA-A	F	KIT	HLA-B	F	KIT	HLA-C	F	KIT	HLA-DRB1	F	KIT
A*02:01	0.2286	SI	B*39:05	0.0791	NO	C*07:02	0.2073	SI	DRB1*08:02	0.1944	SI
A*24:02	0.1688	SI	B*39:06	0.0684	NO	C*04:01	0.1859	SI	DRB1*04:07	0.1175	NO
A*02:06	0.0962	NO	B*51:01	0.0598	SI	C*01:02	0.0897	SI	DRB1*14:06	0.1004	NO
A*68:01	0.0791	SI	B*35:01	0.0577	SI	C*03:04	0.0662	SI	DRB1*07:01	0.0705	SI
A*31:01	0.0791	SI	B*40:02	0.0534	SI	C*06:02	0.0598	SI	DRB1*04:04	0.0662	SI
A*01:01	0.0363	SI	B*48:01	0.0427	SI	C*07:01	0.0534	SI	DRB1*16:02	0.0641	SI
A*68:03	0.0342	NO	B*07:02	0.0406	SI	C*08:01	0.0470	SI	DRB1*15:01	0.0363	SI
A*03:01	0.0321	SI	B*35:17	0.0385	NO	C*08:02	0.0406	SI	DRB1*03:01	0.0321	SI
A*68:02	0.0299	SI	B*35:12	0.0385	NO	C*03:05	0.0342	NO	DRB1*13:01	0.0256	SI
A*29:02	0.0256	SI	B*14:02	0.0321	SI	C*03:03	0.0299	SI	DRB1*01:02	0.0235	SI
A*11:01	0.0214	SI	B*15:15	0.0321	NO	C*16:01	0.0256	SI	DRB1*14:02	0.0235	NO
A*26:01	0.0192	SI	B*44:03	0.0278	SI	C*12:03	0.0256	NO	DRB1*04:03	0.0214	SI
A*23:01	0.0171	SI	B*52:01	0.0214	SI	C*15:09	0.0235	NO	DRB1*13:02	0.0214	NO
A*02:05	0.0171	SI	B*15:01	0.0214	SI	C*05:01	0.0214	SI	DRB1*04:02	0.0214	SI
A*30:02	0.0150	NO	B*39:02	0.0214	NO	C*15:02	0.0192	SI	DRB1*04:11	0.0192	NO
A*30:01	0.0128	SI	B*35:43	0.0192	NO	C*02:02	0.0128	SI	DRB1*01:01	0.0192	SI
A*33:01	0.0128	SI	B*49:01	0.0192	SI	C*14:02	0.0085	SI	DRB1*11:04	0.0171	SI
A*66:01	0.0128	SI	B*18:01	0.0171	SI	C*08:03	0.0085	NO	DRB1*14:01	0.0171	SI
A*32:01	0.0085	SI	B*15:30	0.0171	NO	C*16:04	0.0043	NO	DRB1*11:01	0.0128	SI
A*24:25	0.0064	NO	B*57:01	0.0150	SI	C*02:10	0.0043	NO	DRB1*10:01	0.0128	SI
A*25:01	0.0064	SI	B*35:14	0.0150	NO	C*03:02	0.0043	NO	DRB1*15:02	0.0107	SI
A*68:05	0.0064	NO	B*13:02	0.0128	SI	C*12:02	0.0043	NO	DRB1*11:02	0.0085	NO
A*03:02	0.0064	NO	B*53:01	0.0128	SI	C*04:07	0.0043	NO	DRB1*12:02	0.0064	SI
A*01:02	0.0043	NO	B*38:01	0.0128	SI	C*16:02	0.0021	NO	DRB1*13:03	0.0064	SI
A*33:03	0.0043	SI	B*58:02	0.0128	NO	C*07:04	0.0021	NO	DRB1*04:01	0.0064	SI
A*02:211	0.0021	NO	B*39:01	0.0107	SI	C*15:05	0.0021	NO	DRB1*01:03	0.0064	SI
A*34:01	0.0021	NO	B*40:05	0.0107	NO	C*17:01	0.0021	SI	DRB1*16:01	0.0043	SI
A*01:03	0.0021	NO	B*35:03	0.0107	NO				DRB1*04:10	0.0043	NO
A*34:02	0.0021	SI	B*41:01	0.0107	SI				DRB1*08:04	0.0043	NO
A*30:04	0.0021	NO	B*44:02	0.0107	SI				DRB1*12:01	0.0043	SI
A*74:01	0.0021	SI	B*35:24	0.0085	NO				DRB1*13:05	0.0021	SI
A*26:17	0.0021	NO	B*37:01	0.0085	SI				DRB1*04:05	0.0021	SI

A*02:02	0.0021	SI	B*14:01	0.0085	SI		DRB1*15:03	0.0021	SI
A*02:24	0.0021	NO	B*50:01	0.0085	SI		DRB1*08:03	0.0021	NO
			B*40:27	0.0085	NO		DRB1*04:08	0.0021	NO
			B*55:01	0.0064	SI		DRB1*03:02	0.0021	SI
			B*58:01	0.0064	SI		DRB1*08:01	0.0021	SI
			B*45:01	0.0064	SI		DRB1*09:01	0.0021	SI
			B*27:05	0.0064	SI		DRB1*13:04	0.0021	NO
			B*08:01	0.0064	SI				
			B*39:08	0.0064	NO				
			B*35:08	0.0064	SI				
			B*35:16	0.0064	NO				
			B*15:17	0.0064	NO				
			B*51:02	0.0043	NO				
			B*15:02	0.0043	SI				
			B*15:03	0.0043	SI				
			B*39:10	0.0043	NO				
			B*15:39	0.0043	NO				

Nota. Adaptado de Zúñiga J, Yu N, Barquera R, et al. HLA Class I and Class II Conserved Extended Hplotypes and
Their Fragments or Blocks in Mexicans: Implications for the Study of Genetic Diversity in Admixed Populations.
PLoS One. 2013;8(9).

8.4 Características del trasplante

El 10% de los pacientes, debido a los altos niveles de MFI obtenidos en la primera determinación de anticuerpos anti-HLA y de acuerdo con criterio clínico, recibieron adicionalmente un esquema de desensibilización pre TCH a base de rituximab + bortezomib semanales en 4 dosis o rituximab por sí sólo, para posteriormente realizar una segunda determinación y proceder a realizar el TCH (Tabla 3). En los 7 casos se encontraron anticuerpos anti-HLA no donador específico (no DSA); sin embargo, en dos casos no se encontraron niveles relevantes de DSA. En dos casos no se realizó la tipificación del donador para HLA-C. Un paciente mostró un aumento de DSA contra HLA clase I a cifras mayores a 1000 MFI post desensibilización. La disminución en los niveles de MFI se vio reflejado en los niveles de DSA anti HLA-DRB1.

Los DSA de estos pacientes están descritos en la Tabla 10.

Tabla 10. Pacientes en protocolo de desensibilización							
Paciente n°	**Días pre TCH al inicio de la desensibilización**	**Etapa con respecto a la desensibilización**	**DSA anti HLA-A**	**DSA anti HLA-B**	**DSA anti HLA-C**	**DSA anti HLA-DRB1**	**Anti-HLA no DSA MFI>500**
15	131	Pre	173	107	128	23	HLA DP y HLA DQ
		Post	229	170	113	63	
16	36	Pre	255	259	433	36	HLA DRB5, HLA DP y HLA DQ
		Post	88	163	216	61	
24	57	Pre	163	224	NA	388	HLA DP y HLA DQ
		Post	54	189	NA	804	
35	38	Pre	122	626	73	87	HLA A, HLA B, HLA DRB1, HLA DRB3, HLA DRB5, HLA DQ, HLA DP
		Post	103	1670	155	257	
37	120	Pre	1125	1033	NA	186	HLA A, HLA B, HLA DRB1, HLA DP
		Post	524	477	NA	236	
48	103	Pre	163	196	222	8714	HLA A, HLA B, HLA DRB1, HLA DRB3, HLA DRB5, HLA DQ, HLA DP
		Post	226	198	269	13441	
56	181	Pre	195	236	331	1219	HLA A, HLA B, HLA DRB1, HLA DRB3, HLA DQ, HLA DP
		Post	108	172	135	4102	
Nota. ND= no se realiza tipificación de HLA del donador							

El total de los pacientes trasplantados fueron tratados con regímenes de acondicionamiento con intención no mieloablativa o de intensidad reducida en condiciones ambulatorias. Además de esto se les trató con un esquema de profilaxis para el EICH a base de ciclosporina, ciclofosfamida y micofenolato, además de la ciclofosfamida post TCH. Todo lo anterior de acuerdo con los criterios clínicos para cada patología a tratar y caso particular, siguiendo el manual de esquemas de acondicionamiento del servicio y al Comité de Trasplantes.

La mediana de dosis de células CD34+ infundas fue de 10 millones (9-12.7millones). El producto obtenido por aféresis no es depletado de células T en ninguno de los casos.

Los días post TCH para lograr el injerto mieloide es de 16 días (14-18); el 81.4% de los pacientes lograron de forma exitosa el injerto mieloide.

Para alcanzar el injerto plaquetario se observó un plazo de 16 días (14-20); el 81.4% de los pacientes alcanzaron el injerto plaquetario.

En 58 pacientes se reportó el quimerismo a los 30 días, donde 30 pacientes (77.6%) alcanzaron un quimerismo completo, 6 pacientes (10.3%) un quimerismo mixto y 7 (12.1%) pacientes un quimerismo nulo.

En 42 pacientes se realizó el quimerismo a los 100 días, donde 33 (78.6%) tenían un quimerismo completo, 9 (21.4%) un quimerismo mixto y en ningún paciente se encontró un quimerismo nulo. (Tabla 11).

Tabla 11. Características del TCH y evaluación del injerto.	
Variable	
Infusión CD34+ x106	10 (9-12.7)
Incompatibilidad ABO	-
Mayor	6 (8.6%)
Menor	12 (17.1%)
Compatible	51 (72.9%)
Mixta	1 (1.4%)
Injerto mieloide	57 (81.4%)
Días al injerto mieloide	16 (14-18)
Falla de injerto mieloide	13 (18.6%)
Injerto plaquetario	57 (81.4%)
Días al injerto plaquetario	16 (14-20)
Falla de injerto plaquetario	13 (18.6%)
Quimerismo a 30 días (n=58)	-
Nulo	7 (12.1%)
Completo	45 (77.6%)
Mixto	6 (10.3%)
Quimerismo a 100 días (n=42)	-
Nulo	0 (0.0%)
Completo	33 (78.6%)
Mixto	9 (21.4%)

8.5 Resultados clínicos adversos

Se buscaron y reportaron en la Tabla 12 las complicaciones más frecuentes post TCH, encontrándose que:

En 45 (64.2%) de los pacientes se observó síndrome de liberación de citocinas, siendo grado 1 las más común (66.7%).

La EICH aguda se presentó en 27 pacientes (44.3%); estuvo presente en grado 1 en el 46.2% de los pacientes, siendo 21 casos de presentación cutánea.

La EICH crónica se percibió en 20 casos (28.6%), encontrándose en 13 casos la presentación cutánea.

Se reportó infección post TCH, incluyendo infecciones virales, fúngicas y bacterianas, en 42 pacientes (60%). Del total de los pacientes sometidos a

TCH, 21 pacientes (30%) mostraron una infección por CMV en algún momento post TCH, la cual fue confirmada con la técnica de PCR.

En 53 casos (75.7%) se reportó fiebre y neutropenia.

El requerimiento transfusional post TCH reportado fue de: 19 casos (27.1%) en los que se transfundieron paquetes globulares, 20 pacientes (28.6%) se transfundieron con aféresis plaquetarias y 19 (27.1%) con concentrados plaquetarios.

Tabla 12. Complicaciones en TCH haploidéntico	
Variable	
Síndrome de liberación de citocinas	45 (64.2%)
Grado	-
1	30 (66.7%)
2	13 (28.9%)
3	2 (4.4%)
EICH agudo (n = 61)	27 (44.3%)
Grado	-
1	12 (46.2%)
2	8 (30.8%)
3	6 (22.2%)
4	1 (3.7%)
Localización de EICH agudo	-
Cavidad oral	2
Cutáneo	21
Gastrointestinal	10
Hígado	5
Ocular	1
EICH crónico	20 (28.6%)
Localización de EICH crónico	-
Cavidad oral	8
Cutáneo	13
Gastrointestinal	3
Hígado	6
Ocular	3
Pulmonar	1
Articular	1
Infección	42 (60%)
CMV (+) por PCR	21 (30%)
Fiebre y neutropenia	53 (75.7%)

Requerimientos transfusionales post TCH	-
Paquete globular post HSCT	19 (27.1%)
Aféresis plaquetaria post HSCT	20 (28.6%)
Concentrado plaquetario post HSCT	19 (27.1%)
Nota. Abreviaturas: *EICH* Enfermedad de injerto contra huésped, *CMV* Citomegalovirus, *PCR* Reacción en cadena de la polimerasa	

En 3 (4.3%) casos fue necesario realizar un segundo TCH.

En cuanto a la mortalidad observada en la cohorte, el 21.4% murió a los 100 días y el 40% en el primer año. En 13 pacientes (18.6%) de las muertes fueron relacionadas al trasplante según el criterio clínico (Tabla 13).

Tabla 13. Segundos transplantes y mortalidad en TCH haploidéntico	
Variable	
Segundo trasplante	3 (4.3%)
Mortalidad	-
100 días	15 (21.4%)
Primer año	28 (40%)
Relacionada al trasplante	13 (18.6%)

8.6 Asociación de DSA con las variables estudiadas

Se realizó un análisis para conocer la asociación de los niveles de DSA con las variables clínicas analizadas.

Con finalidades exploratorias, se evaluaron estadísticamente dos umbrales de MFI, siendo el propuesto en la hipótesis de investigación de DSA >500 MFI y el que se emplea actualmente en el laboratorio de DSA>1000 MFI, sin hacer distinción del locus de HLA debido a la baja cantidad de casos DSA positivos.

Para el umbral de DSA>500 MFI se encontraron 13 pacientes DSA positivos (18.6%) y para el umbral de DSA>1000 MFI se encontraron 4 pacientes DSA positivos (5.7%).

En el caso de las características basales de los pacientes sólo se encontró significancia estadística en el diagnóstico (p=0.039) para el grupo de DSA >500 MFI.

Se encontró que, de los pacientes DSA positivos, 7 (53.8%) tienen diagnóstico de LMA y 3 pacientes (23.1%) tienen diagnóstico de base AA, en contraste con el grupo control DSA negativo (15.8 y 5.3%, respectivamente). El diagnóstico que prevalece dentro del grupo DSA negativo con 26 casos (45.6%) es la LLA-B; sólo en 1 caso (7.7%) de LLA-B se presentaron DSA positivos.

En cuanto a los requerimientos transfusionales pre TCH, se observó que para ambos umbrales fue mayor la administración de concentrados plaquetarios en pacientes DSA positivos, siéndolo aún más para el umbral DSA >1000 MFI (MFI >1000 p=0.012; MFI >500 p=0.026.); el 100% de los pacientes DSA positivos >1000 MFI recibieron concentrado plaquetario y el 61.5% en pacientes con DSA >500 MFI.

Los niveles de MFI eran mayores en los pacientes que recibieron un esquema de desensibilización previo al TCH en comparación con quienes no lo recibieron (DSA>1000 MFI p=0.002; DSA >500 MFI p=0.019). (Tabla 14)

No se observó asociación estadísticamente significativa entre las características del donador (Tabla 15) ni con las características del TCH con los niveles de DSA (Tabla 16).

En cuanto a las complicaciones observadas post TCH (Tabla 17), se encontró que la incidencia de infecciones post trasplante fue mayor en el grupo DSA >500 MFI con un 84.6% (p=0.041).

Además, la mortalidad al primer año es estadísticamente mayor en los pacientes DSA positivos para ambos umbrales, siendo aun mayor para el umbral de DSA >500 MFI. (DSA >1000 MFI, p=0.022; DSA >500 MFI, p=0.004).

Respecto a la evaluación del injerto, no se observó un aumento significativo en los días de prendimiento mieloide y plaquetario en los grupos DSA positivos en comparación con los grupos DSA negativos para ambos umbrales.

Tampoco se observó un aumento significativo en los casos DSA positivos para el fallo del injerto, presencia de EICH, fiebre y neutropenia y demás eventos clínicos adversos al TCH.

En vista de lo anterior y de las complicaciones percibidas con relación a los umbrales de MFI, se decidió analizar la relación de los pacientes que tuvieron falla del injerto con otras variables recabadas en esta investigación (*Tabla 18*) encontrando que: el fallo al injerto fue significativamente mayor en los pacientes que recibieron protocolo de desensibilización pre TCH ($p=0.043$); además en ninguno de los pacientes que mostraron falla del injerto se presentó EICH agudo ($p=0.006$) ni EICH crónico ($p=0.019$), siendo significativamente mayor la muerte en los primeros 100 días ($p<0.001$) y por consiguiente en el primer año ($p=0.001$), además que se considera clínicamente que la muerte es relacionada al trasplante ($p<0.001$).

El resto de los factores reportado en la bibliografía que muestras una asociación significativa con la presencia de fallo del injerto, no se observaron en la cohorte, como una dosis mayor de células CD34+, CMV + por PCR, la incompatibilidad ABO, la incidencia de infecciones post TCH, etc.

Tabla 14. Asociación de DSA con características pre TCH de los pacientes

Variable	MFI >1000			MFI >500		
	Sí	**No**	**P**	**Sí**	**No**	**P**
Sexo del receptor	-		0.625			0.364
Masculino	2 (50%)	36 (54.5%)		6 (46.2%)	32 (56.1%)	
Femenino	2 (50%)	30 (45.5%)		7 (53.8%)	25 (43.9%)	
Edad del receptor	10 (3-35)	25 (16-38)	0.143	35 (22-41)	22 (13-35)	0.174
Diagnóstico			0.237			**0.039**
LLA-B	0 (0%)	27 (40.9%)		1 (7.7%)	26 (45.6%)	
LLA-T	0 (0%)	2 (3%)		0 (0%)	2 (3.5%)	
LNH	0 (0%)	5 (7.6%)		1 (7.7%)	4 (7%)	
LH	0 (0%)	5 (7.6%)		0 (0%)	5 (8.8%)	
LMC	0 (0%)	2 (3%)		1 (7.7%)	1 (1.8%)	
LMA	2 (50%)	14 (21.2%)		7 (53.8%)	9 (15.8%)	
SMD	0 (0%)	4 (6.1%)		0 (0%)	4 (7%)	
AA	2 (50%)	4 (6.1%)		3 (23.1%)	3 (5.3%)	
LLC	0 (0%)	1 (1.5%)		0 (0%)	1 (1.8%)	
Mielofibrosis	0 (0%)	1 (1.5%)		0 (0%)	1 (1.8%)	
Síndrome de hiper IgM	0 (0%)	1 (1.5%)		0 (0%)	1 (1.8%)	
Estado de la enfermedad	-		0.325			0.231
Activa	3 (75%)	28 (42.4%)		8 (61.5%)	23 (40.4%)	
Primera remisión	0 (0%)	18 (27.3%)		3 (23.1%)	15 (26.3%)	
Segunda remisión	0 (0%)	13 (19.7%)		0 (0%)	13 (22.8%)	
Refractaria	1 (25%)	7 (10.6%)		2 (15.4%)	6 (10.5%)	
Requerimientos transfusionales pre TCH						
Paquetes globulares	4 (100%)	35 (53%)	0.09	10 (76.9%)	29 (50.9%)	0.079
Concentrados plaquetarios	4 (100%)	20 (30.3%)	**0.012**	8 (61.5%)	16 (28.1%)	**0.026**

Aféresis plaquetarias	1 (25%)	14 (21.2%)	0.628	5 (38.5%)	10 (17.5%)	0.103
Antecedente de embarazo	1 (25%)	11 (16.7%)	0.537	3 (23.1%)	9 (15.8%)	0.391
CMV IgG (+) en receptor (n=24)	2 (100%)	16 (72.7%)	0.554	4 (80%)	14 (73.7%)	0.634
Desensibilización previa a HSCT por DSA	3 (75%)	4 (6.1%)	**0.002**	4 (30.8%)	3 (5.3%)	**0.019**

Tabla 15. Asociación de DSA con las características del donador

	MFI >1000			**MFI >500**		
Variable	**Sí**	**No**	**P**	**Sí**	**No**	**P**
Sexo del donador	-		0.189			0.103
Femenino	3 (75%)	26 (39.4%)		8 (61.5%)	21 (36.8%)	
Masculino	1 (25%)	40 (60.6%)		5 (38.5%)	36 (63.2%)	
Edad del donador	34 (23-55)	32 (24-43)	0.723	30 (24-46)	32 (24-43)	0.797
Parentesco del donador	-		0.278			0.674
Hermano/a	1 (25%)	29 (43.9%)		7 (53.8%)	23 (40.4%)	
Hijo/a	0 (0%)	13 (19.7%)		2 (15.4%)	11 (19.3%)	
Padre/madre	3 (75%)	24 (36.4%)		4 (30.8%)	23 (40.4%)	
Sexo donador-receptor	-		0.463			0.395
Femenino-femenino	2 (50%)	14 (21.2%)		5 (38.5%)	11 (19.3%)	
Femenino-masculino	1 (25%)	12 (18.2%)		3 (23.1%)	10 (17.5%)	
Masculino-femenino	0 (0%)	16 (24.2%)		2 (15.4%)	14 (24.6%)	
Masculino-masculino	1 (25%)	24 (36.4%)		3 (23.1%)	22 (38.6%)	

Tabla 16. Asociación de DSA con las características del TCH y resultados del injerto

	MFI >1000			MFI >500		
Variable	**Sí**	**No**	**P**	**Sí**	**No**	**P**
Infusión CD34+ x106	9.6 (8.1-13.7)	10 (9-12.7)	0.687	10 (8.5-12.6)	10 (9-12.8)	0.825
Incompatibilidad ABO	-		0.664			0.959
Mayor	0 (0%)	6 (9.1%)		1 (7.7%)	5 (8.8%)	
Menor	0 (0%)	12 (18.2%)		2 (15.4%)	10 (17.5%)	
Compatible	4 (100%)	47 (71.2%)		10 (76.9%)	41 (71.9%)	
Mixta	0 (0%)	1 (1.5%)		0 (0%)	1 (1.8%)	
Injerto mieloide	3 (75%)	54 (81.8%)	0.569	10 (76.9%)	47 (82.5%)	0.452
Días al injerto mieloide	14 (14-14)	16 (14-18)	0.506	14 (14-16)	17 (14-18)	0.137
Injerto plaquetario	3 (75%)	55 (83.3%)	0.537	10 (76.9%)	48 (84.2%)	0.391
Días al injerto plaquetario	18 (17-18)	16 (14-20)	0.23	16 (14-20)	16 (14-20)	0.916
Quimerismo a 30 días (n=58)	-		0.633			0.465
Nulo	0 (0%)	7 (12.7%)		1 (10%)	6 (12.5%)	
Completo	3 (100%)	42 (76.4%)		9 (90%)	36 (75%)	
Mixto	0 (0%)	6 (10.9%)		0 (0%)	6 (12.5%)	
Quimerismo a 100 días (n=42)	-		0.613			0.472
Nulo	0 (0%)	0 (0%)		0 (0%)	0 (0%)	
Completo	2 (100%)	31 (77.5%)		5 (71.4%)	28 (80%)	
Mixto	0 (0%)	9 (22.5%)		2 (28.6%)	7 (20%)	

Tabla 17. Asociación de DSA con complicaciones clínicas y mortalidad en TCH haploidéntico

Variable	MFI >1000			MFI >500		
	Sí	No	P	Sí	No	P
Síndrome de liberación de citocinas	2 (50%)	43 (65.2%)	0.451	9 (69.2%)	36 (63.2%)	0.472
EICH agudo (n = 61)	2 (50%)	25 (43.9%)	0.602	6 (66.7%)	21 (40.4%)	0.135
EICH crónico	2 (50%)	17 (28.8%)	0.350	5 (41.7%)	14 (27.5%)	0.264
Falla de injerto	1 (25%)	15 (22.7%)	0.655	4 (30.8%)	12 (21.1%)	0.337
Infección	3 (75%)	39 (59.1%)	0.473	11 (84.6%)	31 (54.4%)	**0.041**
CMV (+) por PCR	1 (25%)	20 (30.3%)	0.653	5 (38.5%)	16 (28.1%)	0.335
Fiebre y neutropenia	4 (100%)	49 (74.2%)	0.319	12 (92.3%)	41 (71.9%)	0.113
Requerimientos transfusionales post TCH	-					
Paquete globular post TCH	2 (50%)	17 (25.8%)	0.296	3 (23.1%)	16 (28.1%)	0.506
Aféresis plaquetaria post TCH	2 (50%)	18 (27.3%)	0.321	3 (23.1%)	17 (29.8%)	0.455
Concentrado plaquetario post TCH	2 (50%)	17 (25.8%)	0.296	2 (15.4%)	17 (29.8%)	0.245
Recaída	1 (25%)	11 (16.7%)	0.537	2 (15.4%)	10 (17.5%)	0.609
Recaída post HSCT	1 (25%)	13 (19.7%)	0.599	2 (15.4%)	12 (21.1%)	0.49
Progresión post HSCT	0 (0%)	4 (6.1%)	0.786	0 (0%)	4 (7%)	0.431
Segundo trasplante	0 (0%)	3 (4.5%)	0.836	0 (0%)	3 (5.3%)	0.535
Mortalidad	-					
100 días	0 (0%)	15 (22.7%)	0.372	3 (23.1%)	12 (21.1%)	0.566
Primer año	4 (100%)	24 (36.4%)	**0.022**	10 (76.9%)	18 (31.6%)	**0.004**
Relacionada al trasplante	0 (0%)	13 (19.7%)	0.431	2 (15.4%)	11 (19.3%)	0.548
Falla de injerto	1 (25%)	15 (22.7%)	0.655	4 (30.8%)	12 (21.1%)	0.337

Tabla 18. Falla del Injerto en TCH haploidéntico			
	Falla del injerto		
Variable	**Sí**	**No**	**P**
Incompatibilidad ABO	2 (12.5%)	17 (31.5%)	0.116
Desensibilización previa	4 (25%)	3 (5.6%)	**0.043**
Infusión CD34+	10 (8.5-14.5)	10 (9-12.6)	0.751
CMV (+)	4 (25%)	17 (31.5%)	0.435
Fiebre y neutropenia	12 (75%)	41 (75.9%)	0.589
Infección	11 (68.8%)	31 (57.4%)	0.416
Recaída	1 (6.3%)	11 (20.4%)	0.176
Síndrome de liberación de citocinas	12 (75%)	33 (61.1%)	0.309
EICH agudo	0 (0%)	27 (50.9%)	**0.006**
EICH crónico	0 (0%)	19 (35.8%)	**0.019**
Muerte en primeros 100 días	10 (62.5%)	5 (9.3%)	**<0.001**
Muerte en primer año	12 (75%)	16 (29.6%)	**0.001**
Muerte relacionada al trasplante	10 (62.5%)	3 (5.6%)	**<0.001**

9 DISCUSIÓN

En este análisis retrospectivo se compararon las variables basales de los pacientes y donadores, las características de la enfermedad y del trasplante haploidéntico, además de la asociación con eventos clínicos adversos posteriores al TCH, con la finalidad de encontrar una relación clínica con el umbral propuesto de MFI obtenidos de la determinación semicuantitativa de DSA.

El umbral de DSA >1000 MFI empleado en la institución es el mismo que se recomienda en las guías de EBMT[28] , el cual se usó con fines exploratorios en la búsqueda de eventos de significancia clínica con relación a la presencia de anticuerpos anti-HLA DSA y así, compararlos con el umbral DSA >500 MFI.

La incidencia de DSA en la cohorte es del 18.6% para el umbral MFI>500 y para el umbral DSA >1000 MFI es de 5.7%. En otros centros, la incidencia es de 18% (22 de 122)[12], 13.9% (11 de 79 pacientes)[13], 14.2% (18 de 134 pacientes)[3], 21% (5 de 28 pacientes)[7], 11.3% (39 de 345)[51], 23% (14 de 62 pacientes en trasplante de unidad de cordón umbilical), siendo similar el porcentaje de pacientes sensibilizados, sin embargo el número total de pacientes en los estudios citados es muy variable.

De entre los casos DSA positivos, el 46.2% son hombres y 53.8% son mujeres; en comparación con otros estudios se ha llegado a encontrar que la mayoría de los pacientes sensibilizados contra el HLA del donador son mujeres (86%)[12], lo cual no se observó en nuestra Institución.

Así mismo vale la pena mencionar que el historial de gravidez no fue estadísticamente significativo para los pacientes DSA positivos, donde se encontró que un 25% (DSA >1000 MFI) y 23.1% (DSA >500 MFI) contaban con historial de embarazo previo al TCH; en otros estudios se ha reportado que los DSA son significativamente mayores en los pacientes que tienen historial de gravidez[4,52].

La asociación entre el diagnóstico de la patología hematológica y la presencia de DSA, también se ha observado en otros estudios, siendo LMA/SMD la más frecuente en los grupos DSA positivos que en los negativos. S.O. Ciurea et al. encontró un 76% versus 55%[12], S. Bramanti et al, un 58% versus 33%[3]. Esto debido a que la transfusión de productos sanguíneos es parte del tratamiento de esta patología, al caracterizarse por citopenias al estar afectada la hematopoyesis normal de la línea mieloide en la médula ósea[53,54].

Después de la LMA, la anemia aplásica severa presenta una mayor incidencia de sensibilización contra los antígenos HLA, esto como consecuencia de las transfusiones múltiples para compensar las citopenias, y previniendo un elevada tasa de rechazo, se añade ATG (globulina anti timocito) al acondicionamiento dado en nuestra Institución para minimizar el rechazo, como ya es recomendado ampliamente[28,55]. La incidencia de AA en nuestra cohorte no puede ser comparada con los reportes de otras instituciones ya que esta patología es agrupada en conjunto como “Otros” al no considerarse malignidad hematológica.

En el caso de la leucemia linfoblástica aguda de células B, patología prevalente en los casos DSA negativos, se puede entender que, pese a que en ocasiones se requiera de transfusión de productos plaquetarios, la producción de anticuerpos es menor y deficiente por la proliferación de clonas malignas y poco diferenciadas de linfocitos B[56]. Se puede observar una incidencia significativa similar en otros casos donde los casos de LLA-B DSA negativos representan el 13% y el 5% son DSA positivos[12]. Hay contraste con otro reporte donde el 23.8% son pacientes DSA negativos y el 18.2% son DSA positivos[13] sin diferencia significativa.

Es necesario tener en cuenta el contexto de la patología hematológica para así saber en qué casos en realidad tiene relevancia clínica la determinación de anticuerpos anti-HLA en la búsqueda de DSA, ya que en México, y específicamente en las instituciones públicas, donde se llevan a cabo el 78% de los TCH[57], no se realiza este determinación de rutina debido a los costos

que conlleva[58], donde tan sólo el TCH haploidéntico realizado con el método “mexicano” tiene un costo aproximado de $25,000.00 USD[59] ($505,787.50 MXN); además es necesario considerar que no todos los pacientes cuentan con seguro de gastos médicos o con cobertura médica por parte de una institución gubernamental o sindicato.

En cuanto a los eventos transfusionales previos al TCH, se encontró que fue significativamente mayor la administración de concentrados plaquetarios en los grupos DSA positivos, siendo aún más en los pacientes con DSA >1000 MFI. Es importante recordar que el concentrado plaquetario se obtiene por fraccionamiento de la sangre total en un volumen que va de 45 a 60 ml, con una concentración de plaquetas de $5.5x10^{10}$, con un contenido de leucocitos de $1x10^{8}$ y 1ml de eritrocitos; cuando se realiza por remoción de la capa leucocitaria se obtiene el producto con una cantidad de $1x10^{7}$ leucocitos residuales por bolsa[60]. Usualmente se indica el uso de filtro leucorreductor al momento de la transfusión para disminuir el riesgo de aloinmunización[61].

En su contraparte se encuentra la aféresis plaquetaria, que de un solo donador, se puede obtener el equivalente a 6, incluso hasta 8, concentrados plaquetarios (6 a $9x10^{11}$ plaquetas), esta técnica reduce el número de exposiciones a diferentes antígenos HLA al provenir de un solo donante, a la vez que se consideran productos leucorreducidos ($<1x10^{6}$ leucocitos por unidad)[60,62]. Sin embargo, esta última técnica, pese a representar una ventaja en cuanto a la disminución de los eventos predisponentes a la formación de anticuerpos anti-HLA, representan un mayor costo económico, además de requerir equipo de separación y personal calificado.

Con lo anterior es importante que se tome a consideración, si en algún momento el paciente pueda requerir someterse a un TCH, el médico valore la posibilidad de disminuir los eventos sensibilizantes por transfusión de plaquetas en medida de los posible.

Debido a que se encontró que los niveles de anti-HLA DSA en 7 pacientes era significativamente mayor que en los pacientes que no entraron al protocolo de desensibilización, pese a que estos niveles de DSA fueron registrados en la determinación pre TCH por lo que ya habían concluido el esquema; se buscaron los valores de la primera determinación y los días pre TCH con los que se inició a administrar este esquema. Se puede observar que al menos para uno los antígenos HLA clase I hay “aumento” de los niveles de MFI entre la primera determinación y la segunda, viéndose superado el umbral de DSA >1000 MFI en un caso para la segunda determinación post desensibilización. En cuanto a los niveles de MFI para los antígenos de HLA clase II en todos los casos se observa una “disminución”.

Este comportamiento puede justificarse con la transfusión de plaquetas posterior al inicio de la desensibilización, ya que estas tienen en su superficie antígenos HLA clase I [5], además de la ventana existente entre el inicio de la desensibilización y el trasplante da pie para que se presenten la necesidad de administrar transfusiones debido a las condiciones de la patología de base. Se recomienda en las guías de EBMT que el análisis de anticuerpos anti-HLA para la toma de decisiones se realice un mes antes de la fecha estimada al trasplante [28].

Se ha reportado que se observa una disminución en la falla del injerto en pacientes que se les administra 3 días antes del trasplante una sola dosis de rituximab 375mg/m^2 cuando los DSA se encuentran entre 2000<MFI<5000, pero no en los casos donde se presenten 5000<MFI<10000 [30]. En otros estudios no se pudo determinar el efecto de la terapia de desensibilización con rituximab+bortezomib por la corta duración de las observaciones durante el estudio[13].

Es importante debe valorar la decisión de someter al paciente antes de entrar a un protocolo de desensibilización cuando se observen anti-HLA para antígenos que no correspondan al donador (conocidos como anti-HLA no DSA), ya que se ha encontrado que no hay resultados negativos post TCH que

se correlacionen con la presencia de este tipo de anti-HLA no DSA, como la sobrevida en general, la sobrevida libre de progresión, la mortalidad relacionada al trasplante, ni la incidencia de fallo del injerto [5,27,28,52].

Es importante mencionar que los alelos HLA-DRB3/4/5, -DQ y -DP en las parejas donador/receptor no son tipificados por protocolo en TCH, además de que, sino hasta hace poco, se realiza la determinación de HLA-C, por lo que su impacto no ha sido determinado por consenso.

En otras cohortes se ha observado que en los sujetos con anticuerpos contra estos antígenos se ha presentado retraso en el injerto, incluso fallo en el injerto [27]; s necesario tomar en cuenta que la técnica SAB, la cual es empleada, es la mejor en determinar las reactividades contra estos antígenos[34], en caso de que se decida en un futuro realizar este análisis de rutina o en casos de sujetos altamente sensibilizados.

También es necesario mantener siempre presente que es una estimación semicuantitativa de anticuerpos, lo que significa que si se observa un aumento no es necesariamente por una adición algebraica en la cantidad de anticuerpo[37], dado lo anterior el valor en MFI no debe ser considerado por sí sólo para tomar una decisión clínica con respecto a la desensibilización de los pacientes.

Se encontró que la incidencia de infección es significativamente mayor en el grupo DSA positivo para el umbral >500 MFI. Esto es un factor de riesgo asociado a la etapa temprana post trasplante (hasta el día +30), ya que existe neutropenia, el daño de barreras anatómicas por la quimioterapia, la radiación, inmunosupresión por fármacos como la ciclofosfamida post TCH, colocación de catéteres, además de la reconstitución tardía del sistema inmune junto con la pobre respuesta de la respuesta de las células T en un periodo tardío post trasplante (día +40 al+100), la exposición a un ambiente comunitario al ser trasplantes “ambulatorios” [28].

La presencia de infecciones se ha asociado con una alta mortalidad al primer año post TCH haploidentico[28]. Las infecciones por sí solas no se han relacionado directamente con la presencia de anticuerpos anti-HLA, sin embargo, esto es un indicador de que el injerto aún no es competente para actuar frente a amenazas inmunológicas y, si la infección no es tratado de forma adecuada, es alta la probabilidad de que se produzca una falla o retraso en el injerto[58,63].

El evento clínico adverso que se observó fue significativamente mayor en ambos umbrales es la muerte al primer año post TCH, que lo fue incluso más para el umbral DSA> 500 MFI; y debido a que lo anterior no se observó en la muerte durante el primer mes post TCH se evidencia la aparición de eventos en la etapa tardía post TCH[28]

Dados los anteriores eventos clínicos adversos que se presentaron post TCH, se analizó el quimerismo al mes y al año post TCH, al igual que el injerto mieloide y plaquetario, sin encontrarse evidencia de significancia estadística que relacione un retraso en el injerto con la presencia de niveles altos de DSA. Por lo que dichos eventos no están directamente relacionados con el fallo o pérdida del injerto, lo que significa que puede deberse a otras causas relacionadas a la patología de base y el régimen de TCH en la cohorte, ya que en general se observó un 40% en la mortalidad el primer año.

En cuanto al kit comercial empleado en la determinación de los DSA, se observó que hay antígenos correspondientes población mexicana urbana que corresponde a una combinación no homogénea de genes HLA amerindios, caucásicos y africanos[64–67] que no están representados en las perlas SAB comerciales, por lo que la determinación de DSA no es posible en algunos casos; esto puede significar que, en este estudio de investigación, así como en la práctica clínica hay una subestimación de los niveles reales de anticuerpos dirigidos contra el donador.

Por lo anterior es necesario establecer pruebas complementarias de histocompatibilidad, como CDC, además de la historia clínica del paciente para establecer la posibilidad de estar realmente sensibilizado y evaluar si amerita la búsqueda de otro candidato a donación o entrar a un protocolo de desensibilización con medicamentos, como se ha realizado en la Institución.

El fallo del injerto y la mortalidad en los primeros 100 días no tiene relación significativa con la presencia de DSA >500 MFI o >1000 MFI; sin embargo en el análisis donde se relaciona el fallo del injerto en la cohorte con las demás variables estudiadas se puede observar que, pese a que los pacientes fueron sometidos al protocolo de desensibilización, sufrieron fallo del injerto, lo que nos da una pauta para valorar su verdadera relevancia en los pacientes que se lleguen a considerar sensibilizados.

Además, se encontró que los pacientes con fallo del injerto no presentaron EICH agudo ni crónico, tal vez por el hecho que la mortalidad para este grupo en los primeros 100 días y al año post TCH es muy elevada (62.5% y 75% respectivamente), por lo que no se alcanza a presentar este evento clínico. Por lo anterior, se registró que la mortalidad en el 62.5% de los casos es relacionada al transplante.

Es importante continuar explorando las diversas causas clínicas que se relacionan al fallo del injerto en los pacientes sometidos a un TCH haploidéntico en la institución, así como valorar la verdadera relevancia de realizar la determinación de anticuerpos anti-HLA, así como la interpretación que se le dará para la toma de decisiones clínicas.

.

10 CONCLUSION

Se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, es decir la presencia de anticuerpos anti-HLA específicos contra el donador (DSA) para los antígenos HLA-A, HLA-B, HLA-C y HLA-DRB1 en un valor igual o mayor a 500 MFI antes del trasplante haploidéntico de células hematopoyéticas se asocia a efectos clínicos adversos.

Los resultados de este estudio confirman la relación entre el riesgo de infección y mortalidad en el primer año en receptores de TCH haploidéntico, cuando existe la presencia de DSA > 500 MFI.

11 PERSPECTIVAS

- Debido a la incompleta representación de antígenos HLA presentes en la población mestiza mexicana dentro del kit comercial empleado para la determinación de DSA, considerar complementar la evaluación de histocompatibilidad con una prueba “gold standard”.

- Establecer la sensibilidad y especificidad de la prueba por la técnica de SAB, empleando como criterio de referencia la prueba CDC.

- Caracterizar los alelos HLA-DRB3/4/5, -DQ y -DP, así como evaluar el nivel de sensibilización contra estos y su impacto en el TCH haploidéntico.

- Explorar los diversos factores clínicos asociados a la falla del injerto en TCH haploidéntico.

12 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Luznik L, O'Donnell P V., Symons HJ, et al. HLA-Haploidentical Bone Marrow Transplantation for Hematologic Malignancies Using Nonmyeloablative Conditioning and High-Dose, Posttransplantation Cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14(6):641-650. doi:10.1016/j.bbmt.2008.03.005

2. Morin-Zorman S, Loiseau P, Taupin JL, Caillat-Zucman S. Donor-specific anti-HLA antibodies in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Front Immunol*. 2016;7(AUG):1-6. doi:10.3389/fimmu.2016.00307

3. Bramanti S, Calafiore V, Longhi E, et al. Donor-Specific Anti-HLA Antibodies in Haploidentical Stem Cell Transplantation with Post-Transplantation Cyclophosphamide: Risk of Graft Failure, Poor Graft Function, and Impact on Outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2019;25(7):1395-1406. doi:10.1016/j.bbmt.2019.02.020

4. Chang YJ, Zhao XY, Xu LP, et al. Donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies were associated with primary graft failure after unmanipulated haploidentical blood and marrow transplantation: A prospective study with randomly assigned training and validation sets. *J Hematol Oncol*. 2015;8(1):1-10. doi:10.1186/s13045-015-0182-9

5. Ciurea SO, Cao K, Fernadez-Vina M, et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Consensus Guidelines for the Detection and Treatment of Donor-specific Anti-HLA Antibodies (DSA) in Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2018;53(5):521-534. doi:10.1038/s41409-017-0062-8

6. Howard CA, Fernandez-Vina MA, Appelbaum FR, et al. Recommendations for donor human leukocyte antigen assessment and matching for allogeneic stem cell transplantation: Consensus opinion of

the blood and marrow transplant clinical trials network (BMT CTN). *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(1):4-7. doi:10.1016/j.bbmt.2014.09.017

7. Ciurea SO, De Lima M, Cano P, et al. High risk of graft failure in patients with anti-hla antibodies undergoing haploidentical stem-cell transplantation. *Transplantation*. 2009;88(8):1019-1024. doi:10.1097/TP.0b013e3181b9d710

8. Daniels G. HLA (Human Leucocyte-Associated) Class I Antigens on Red Cells. *Hum Blood Groups*. Published online 2013:512-514. doi:10.1002/9781118493595.ch32

9. Martínez Álvarez JC. Anticuerpos, antígenos leucocitarios humanos y biomoduladores en los efectos adversos agudos de las transfusiones. *Gac Med Mex*. 2013;149(1):81-88.

10. Lomas J, Anderson GM, Domnick-Pierre K, Vayda E, Enkin MW. The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at PENN STATE UNIVERSITY on November 25, 2015. For personal use only. No other uses without permission. From the NEJM Archive. Copyright © 2010 Massachusetts Medical Society. All rights reserved. *N Engl J Med*. 1989;321(19):1306-1311.

11. Ottinger HD, Rebmann V, Pfeiffer KA, et al. Positive serum crossmatch as predictor for graft failure in HLA-mismatched allogeneic blood stem cell transplantation. *Transplantation*. 2002;73(8):1280-1285. doi:10.1097/00007890-200204270-00016

12. Ciurea SO, Thall PF, Milton DR, et al. Complement-Binding Donor-Specific Anti-HLA Antibodies and Risk of Primary Graft Failure in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(8):1392-1398. doi:10.1016/j.bbmt.2015.05.001

13. Yoshihara S, Maruya E, Taniguchi K, et al. Risk and prevention of graft

failure in patients with preexisting donor-specific HLA antibodies undergoing unmanipulated haploidentical SCT. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47(4):508-515. doi:10.1038/bmt.2011.131

14. Zhang Q, Hickey MJ, Valenzuela NM, et al. Practical Atlas of Transplant Pathology. *Pract Atlas Transpl Pathol*. Published online 2016. doi:10.1007/978-3-319-23054-2

15. Chang YJ, Luznik L, Fuchs EJ, Huang XJ. How do we choose the best donor for T-cell-replete, HLA-haploidentical transplantation? *J Hematol Oncol*. 2016;9(1):52-55. doi:10.1186/s13045-016-0265-2

16. Taylor PA, Ehrhardt MJ, Roforth MM, et al. Preformed antibody, not primed T cells, is the initial and major barrier to bone marrow engraftment in allosensitized recipients. *Blood*. 2007;109(3):1307-1315. doi:10.1182/blood-2006-05-022772

17. Thaunat O, Hanf W, Dubois V, et al. Chronic humoral rejection mediated by anti-HLA-DP alloantibodies: Insights into the role of epitope sharing in donor-specific and non-donor specific alloantibodies generation. *Transpl Immunol*. 2009;20(4):209-211. doi:10.1016/j.trim.2008.12.006

18. Spellman S, Bray R, Rosen-Bronson S, et al. The detection of donor-directed, HLA-specific alloantibodies in recipients of unrelated hematopoietic cell transplantation is predictive of graft failure. *Blood*. 2010;115(13):2704-2708. doi:10.1182/blood-2009-09-244525

19. Picascia A, Grimaldi V, Sabia C, Napoli C. Comprehensive assessment of sensitizing events and anti-HLA antibody development in women awaiting kidney transplantation. *Transpl Immunol*. 2016;36:14-19. doi:10.1016/j.trim.2016.03.002

20. Hess JR, Trachtenberg FL, Assmann SF, et al. Clinical and laboratory correlates of platelet alloimmunization and refractoriness in the PLADO trial. *Vox Sang*. 2016;111(3):281-291. doi:10.1111/vox.12411

21. Higgins JM, Sloan SR. Stochastic modeling of human RBC alloimmunization: Evidence for a distinct population of immunologic responders. *Blood*. 2008;112(6):2546-2553. doi:10.1182/blood-2008-03-146415

22. Rees L, Kim JJ. HLA sensitisation: can it be prevented? *Pediatr Nephrol*. 2015;30(4):577-587. doi:10.1007/s00467-014-2868-6

23. Ciurea SO, Thall PF, Wang X, et al. Donor-specific anti-HLAAbs and graft failure in matched unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2011;118(22):5957-5964. doi:10.1182/blood-2011-06-362111

24. Takanashi M, Atsuta Y, Fujiwara K, et al. The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations. *Blood*. 2010;116(15):2839-2846. doi:10.1182/blood-2009-10-249219

25. Cutler C, Kim HT, Sun L, et al. Donor-specific anti-HLA antibodies predict outcome in double umbilical cord blood transplantation. *Blood*. 2011;118(25):6691-6697. doi:10.1182/blood-2011-05-355263

26. Ruggeri A, Rocha V, Masson E, et al. Impact of donor-specific anti-HLA antibodies on graft failure and survival after reduced intensity conditioning-unrelated cord blood transplantation: A Eurocord, société Francophone d'Histocompatibilité et d'immunogénétique (SFHI) and Société Française de. *Haematologica*. 2013;98(7):1154-1160. doi:10.3324/haematol.2012.077685

27. Yamamoto H, Uchida N, Matsuno N, et al. Anti-HLA antibodies other than against HLA-A, -B, -DRB1 adversely affect engraftment and nonrelapse mortality in HLA-mismatched single cord blood transplantation: Possible implications of unrecognized donor-specific antibodies. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(10):1634-1640. doi:10.1016/j.bbmt.2014.06.024

28. Polomeni A, Moreno E, Schulz-Kindermann F. *Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies*. EBMT; 2019. doi:10.1007/978-3-030-02278-5_30

29. *NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para La Disposición de Sangre Humana y Sus Componentes Con Fines Terapéuticos.*

30. Chang YJ, Xu LP, Wang Y, et al. Rituximab for desensitization during HLA-mismatched stem cell transplantation in patients with a positive donor-specific anti-HLA antibody. *Bone Marrow Transplant*. 2020;55(7):1326-1336. doi:10.1038/s41409-020-0928-z

31. Peña JR, Fitzpatrick D, Saidman SL. Complement-Dependent Cytotoxicity Crossmatch. In: *Bryophyte Ecology*. Vol 2. ; 2013:257-283. doi:10.1007/978-1-62703-493-7_13

32. Tait BD, Hudson F, Brewin G, Cantwell L, Holdsworth R. Solid phase HLA antibody detection technology - Challenges in interpretation. *Tissue Antigens*. 2010;76(2):87-95. doi:10.1111/j.1399-0039.2010.01486.x

33. Pei R, Lee JH, Shih NJ, Chen M, Terasaki PI. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation*. 2003;75(1):43-49. doi:10.1097/00007890-200301150-00008

34. Tait BD, Süsal C, Gebel HM, et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and Non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation*. 2013;95(1):19-47. doi:10.1097/TP.0b013e31827a19cc

35. Caro-Oleas JL, González-Escribano MF, Toro-Llamas S, et al. Donor-specific antibody detection: Comparison of single antigen assay and Luminex crossmatches. *Tissue Antigens*. 2010;76(5):398-403. doi:10.1111/j.1399-0039.2010.01531.x

36. Sullivan HC, Gebel HM, Bray RA. Understanding solid-phase HLA antibody assays and the value of MFI. *Hum Immunol*. 2017;78(7-8):471-480. doi:10.1016/j.humimm.2017.05.007

37. Bettinotti MP, Zachary AA, Leffell MS. Clinically relevant interpretation of solid phase assays for HLA antibody. *Curr Opin Organ Transplant*. 2016;21(4):453-458. doi:10.1097/MOT.0000000000000326

38. Vaidya S. Clinical importance of anti-human leukocyte antigen-specific antibody concentration in performing calculated panel reactive antibody and virtual crossmatches. *Transplantation*. 2008;85(7):1046-1050. doi:10.1097/TP.0b013e318168fdb5

39. Thermo Fisher Scientific. Luminex platform technology. Published 2022. https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/antibodies/immunoassays/procartaplex-assays-luminex/features.html#xmap-technology

40. Diagnostics IGTI, Circle C, Documentaci COM, et al. FOLLETO INFORMATIVO DEL PRODUCTO. Lifecodes Clase I/II LSA. 2019;1(855):1-6. doi:LC1683CEES Rev. C

41. Friedlander R, Putheti P, Diaz E, et al. On the detection of anti-HLA antibodies using single antigen bead luminex assay: Lot-to-lot variations in MFI. *Transplantation*. 2013;96(4):24-26. doi:10.1097/TP.0b013e31829c2481

42. Kosmoliaptsis V, Bradley JA, Peacock S, Chaudhry AN, Taylor CJ. Detection of immunoglobulin g human leukocyte antigen-specific alloantibodies in renal transplant patients using single-antigen-beads is compromised by the presence of immunoglobulin m human leukocyte antigen-specific alloantibodies. *Transplantation*. 2009;87(6):813-820. doi:10.1097/TP.0b013e318199c581

43. Otten HG, Verhaar MC, Borst HPE, et al. The significance of

pretransplant donor-specific antibodies reactive with intact or denatured human leucocyte antigen in kidney transplantation. *Clin Exp Immunol*. 2013;173(3):536-543. doi:10.1111/cei.12127

44. Ellis TM. Interpretation of HLA single antigen bead assays. *Transplant Rev*. 2013;27(4):108-111. doi:10.1016/j.trre.2013.07.001

45. McCutcheon JA, Gumperz J, Smith KD, Lutz CT, Parham P. Low HLA-C expression at cell surfaces correlates with increased turnover of heavy chain mRNA. *J Exp Med*. 1995;181(6):2085-2095. doi:10.1084/jem.181.6.2085

46. Holdsworth R, Hurley CK, Marsh SGE, et al. The HLA dictionary 2008: A summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, and -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ antigens. *Tissue Antigens*. 2009;73(2):95-170. doi:10.1111/j.1399-0039.2008.01183.x

47. Susal C, Wettstein D, Dohler B, et al. Association of Kidney Graft Loss with de Novo Produced Donor-Specific and Non-Donor-Specific HLA Antibodies Detected by Single Antigen Testing. *Transplantation*. 2015;99(9):1976-1980. doi:10.1097/TP.0000000000000672

48. Aguilar S. Fórmulas para el cálculo de la muestra en investigaciones de salud. *Salud en Tabasco*. 2005;11:333-338.

49. Fisher R. A. On the Interpretation of χ2 from Contingency Tables , and the Calculation. *J R Stat Soc*. 2013;85(1):87-94.

50. Randles RH WD. *Introduction to the Theory of Nonparametric Statistics.* John Wiley; 1979.

51. Zhao X, Zhao X, Huo M, et al. Donor-Specific Anti-Human Leukocyte Antigen Antibodies Predict Prolonged Isolated Thrombocytopenia and Inferior Outcomes of Haploidentical Hematopoietic Stem Cell

Transplantation. *J Immunol Res*. 2017;2017. doi:10.1155/2017/1043836

52. Andolina JR, Walia R, Oliva J, et al. Non-donor specific anti-human leukocyte antigen (HLA) antibodies are not associated with poor outcome in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Hum Immunol*. 2020;81(8):407-412. doi:10.1016/j.humimm.2020.05.006

53. Lee S, Parra P. Factors Affecting Transfusion Utilization in Acute Myeloid Leukemia (AML) Patients Undergoing Initial Therapy. *613 ACUTE MYELOID Leuk Clin Stud POSTER III*. Published online 2017:3870. doi:10.1182/blood.V130.Suppl_1.3870.3870

54. Hourigan CS, Malkovska V. Leucemia Aguda Mieloblástica. In: *Bethesda. Manual de Hematología Clínica*. 4th ed. ; 2019:168-180.

55. Bacigalupo A, Socie G, Hamladji RM, et al. Current outcome of HLA identical sibling versus unrelated donor transplants in severe aplastic anemia: An EBMT analysis. *Haematologica*. 2015;100(5):696-702. doi:10.3324/haematol.2014.115345

56. Onciu M. Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23(4):655-674. doi:10.1016/j.hoc.2009.04.009

57. Jaimovich G, Gale RP, Hanesman I, et al. The paradox of haematopoietic cell transplant in Latin America. *Bone Marrow Transplant*. 2021;56(10):2382-2388. doi:10.1038/s41409-021-01321-x

58. Jaime-Pérez JC, Salazar-Cavazos L, Aguilar-Calderón P, Herrera-Garza JL, Gutiérrez-Aguirre CH, Gómez-Almaguer D. Assessing the efficacy of an ambulatory peripheral blood hematopoietic stem cell transplant program using reduced intensity conditioning in a low-middle-income country. *Bone Marrow Transplant*. 2019;54(6):828-838. doi:10.1038/s41409-018-0338-7

59. Ruiz-Argüelles GJ, Ruiz-Delgado GJ, González-Llano O, Gómez-

Almaguer D. Haploidentical Bone Marrow Transplantation in 2015 and Beyond. *Curr Oncol Rep*. 2015;17(12):5-9. doi:10.1007/s11912-015-0482-9

60. Malagón A, Berges A, Bonifaz R et al. Guía para el uso clínico de la sangre. *Asoc Mex Med Transfusional*. Published online 2007:175. http://www.salud.gob.mx/cnts/pdfs/GuiaParaElUsoClinicoDeLaSangre.pdf

61. Sociedad de Argentina. Recomendaciones para la leucorreducción de componentes celulares. *Guías Nac para el uso apropiado la sangre y sus componentes*. 2010;68:93-100.

62. Carrillo R, Garnica M. Actualidades en transfusión. *Rev Mex Anestesiol*. 2011;34(1):207-210.

63. D'Orsogna L, van den Heuvel H, van Kooten C, Heidt S, Claas FHJ. Infectious pathogens may trigger specific allo-HLA reactivity via multiple mechanisms. *Immunogenetics*. 2017;69(8-9):631-641. doi:10.1007/s00251-017-0989-3

64. Gorodezky C, Alaez C, Vázquez-García MN, et al. The genetic structure of Mexican Mestizos of different locations: Tracking back their origins through MHC genes, blood group systems, and microsatellites. *Hum Immunol*. 2001;62(9):979-991. doi:10.1016/S0198-8859(01)00296-8

65. Zúñiga J, Yu N, Barquera R, et al. HLA Class I and Class II Conserved Extended Haplotypes and Their Fragments or Blocks in Mexicans: Implications for the Study of Genetic Diversity in Admixed Populations. *PLoS One*. 2013;8(9). doi:10.1371/journal.pone.0074442

66. Barquera R, Hernández-Zaragoza DI, Bravo-Acevedo A, et al. The immunogenetic diversity of the HLA system in Mexico correlates with underlying population genetic structure. *Hum Immunol*. 2020;81(9):461-474. doi:10.1016/j.humimm.2020.06.008

67. Leal CA, Mendoza-Carrera F, Rivas F, Rodriguez-Reynoso S, Portilla-De Buen E. HLA-A and HLA-B allele frequencies in a mestizo population from Guadalajara, Mexico, determined by sequence-based typing. *Tissue Antigens*. 2005;66(6):666-673. doi:10.1111/j.1399-0039.2005.00495.x

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

María Luisa Ruiz de la Cruz

Candidata para la obtención de grado de Maestría en Laboratorio de Hematología

Tesis:

DETERMINACIÓN DEL UMBRAL SIGNIFICATIVO DE ANTICUERPOS ANTI-HLA ESPECÍFICOS CONTRA DONADOR EN TRASPLANTE HAPLOIDÉNTICO RELACIONADO DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS

Campo de estudio: laboratorio de hematología

Biografía:

Datos personales: nacida en Monterrey, Nuevo León el 21 de octubre de 1997.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con el grado de Químico Farmacéutico Biólogo en el 2020, segundo lugar de generación.