

## **Método cubano para determinar el porcentaje calculado de anticuerpos reactivos contra panel.**

Chang Monteagudo, Arturo<sup>1</sup>  
Marcell Rodríguez, Lelyem<sup>1</sup>  
Ustariz García, Catalino<sup>1</sup>  
Bencomo Hernández, Antonio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Hematología e Inmunología/Departamento de Histocompatibilidad, La Habana, Cuba, [achangm@gmail.com](mailto:achangm@gmail.com)

### **Resumen:**

**Introducción:** El método de laboratorio para evaluar el nivel de sensibilización contra los antígenos leucocitarios humanos (HLA, del inglés *human leukocyte antigens*) alogénicos, denominado “anticuerpos reactivos contra panel” (PRA, del inglés *panel reactive antibodies*) se ha sustituido gradualmente en varios sistemas de salud del mundo por el PRA calculado (cPRA).

**Objetivos:** Desarrollar y validar un método cubano para determinar el porcentaje calculado de anticuerpos reactivos contra panel.

**Método:** Se creó una solución informática basada en una hoja de cálculo de LibreOffice versión 5.3.7 (The Document Foundation), con el HLA de 790 donantes cadáveres de órganos sólidos y donantes de células progenitoras hematopoyéticas. La tipificación HLA se realizó con el estuche Olerup HLA-A-B-DR-DQ SSP (Olerup, Suecia), y la estimación de las frecuencias génicas con Arlequín 3.5.2.2 (Swiss Institute of Bioinformatics, Suiza). Se tomó como método de referencia el cPRA Calculator online (Health Resources and Services Administration, EEUU). Los anticuerpos anti-HLA de los receptores se determinaron por tecnología xMAP® Luminex.

**Resultados:** Los cPRA que se determinaron para cada antígeno inaceptable de forma individual tuvieron una mediana de 1,2 puntos porcentuales de diferencia con respecto al método de referencia; y los que se calcularon en receptores en espera de trasplante renal, de 3,2 puntos porcentuales. Las incompatibilidades con mayores diferencias se presentaron generalmente en antígenos de alta frecuencia poblacional. En los pacientes con elevado nivel de aloinmunización los cPRA tuvieron mayor similitud entre los métodos.

**Conclusiones:** Se desarrolló y validó un método cubano para determinar el porcentaje calculado de anticuerpos reactivos contra panel.

**Palabras clave:** Antígenos HLA, anticuerpos, trasplante, pruebas de histocompatibilidad.

## I. INTRODUCCIÓN

El método de laboratorio para evaluar el nivel de sensibilización contra los antígenos leucocitarios humanos (HLA, del inglés *human leukocyte antigens*) alogénicos, denominado “anticuerpos reactivos contra panel” (PRA, del inglés *panel reactive antibodies*) se ha sustituido gradualmente en varios sistemas de salud del mundo por el PRA calculado (cPRA), que se basa en pruebas cruzadas virtuales en las que se “enfrentan” en un ordenador las especificidades de los aloanticuerpos anti-HLA del receptor con los antígenos HLA de un panel de individuos representativos de la población (1).

Tanto el PRA como el cPRA permiten clasificar a los pacientes y hacer una distribución de los órganos más justa y equitativa (2). Un valor de PRA “clásico” elevado significa que el paciente tiene una alta probabilidad de tener una prueba cruzada positiva. Sin embargo, como el cPRA se basa en los antígenos inaceptables para el receptor y se evitan los donantes que los incluyan, cuando se asigna un órgano a un paciente con un cPRA elevado, habrá una alta probabilidad de que la prueba cruzada sea negativa (3).

La capacidad del cPRA para indicar la posibilidad de encontrar un donante compatible depende en gran medida de si los programas informáticos tienen en cuenta la frecuencia génica del HLA poblacional del territorio donde se trasplantará el receptor (4, 5). La presente investigación tuvo como objetivo desarrollar y validar un método cubano para determinar el cPRA.

## II. MÉTODO

Se creó una solución informática basada en una hoja de cálculo de LibreOffice versión 5.3.7 (The Document Foundation), en el departamento de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología de la Habana para determinar el cPRA, utilizando como datos las especificidades de los aloanticuerpos anti-HLA en un paciente y los antígenos HLA-A, B, DRB1 y DQB1 de un panel con el HLA de 790 donantes cadáveres de órganos sólidos y donantes de células progenitoras hematopoyéticas.

La tipificación HLA de los donantes se realizó mediante técnicas de biología molecular con el estuche de baja resolución Olerup HLA-A-B-DR-DQ SSP (Olerup, Suecia), y la determinación de las frecuencias génicas se estimó con Arlequín 3.5.2.2 (Swiss Institute of Bioinformatics, Suiza).

Para la validación se tomó como método de referencia el programa informático cPRA Calculator online (Health Resources and Services Administration, EEUU). Se determinaron los cPRA de forma independiente para cada antígeno HLA inaceptable y para las combinaciones de incompatibilidades de 10 receptores en lista de espera de un segundo trasplante renal.

Los anticuerpos anti-HLA de los receptores se determinaron por tecnología xMAP® Luminex mediante estuches Lifecodes LMX para el tamizaje y LSA para la identificación por método de antígeno aislado (Immucor, EEUU). Las especificidades de anticuerpos se expresaron en nomenclatura HLA de baja resolución.

### III. RESULTADOS

Los cPRA que se determinaron para cada antígeno inaceptable de forma individual tuvieron un promedio y una mediana de 2,0 y 1,2 puntos porcentuales de diferencia respectivamente en todos los *loci* HLA, con respecto al método de referencia. Las mayores diferencias se presentaron antígenos de elevada frecuencia poblacional, con excepción del HLA-B\*40 (Tablas 1, 2 y 3).

Tabla 1: Porcentajes de cPRA por métodos según incompatibilidades inaceptables aisladas HLA-A

Antígenos HLA inaceptables	Frecuencia poblacional	cPRA %	cPRA de referencia %	Diferencia porcentual
A*01	0,077	15,32	23,54	8,22
A*02	0,253	41,65	47,90	6,25
A*03	0,075	15,32	22,23	6,91
A*11	0,049	9,24	10,38	1,14
A*23	0,049	11,77	6,72	5,05
A*24	0,117	19,75	17,42	2,33
A*25	0,007	2,28	2,97	0,69
A*26	0,031	6,08	4,89	1,19
A*29	0,058	12,78	6,86	5,92
A*30	0,056	11,14	8,28	2,86
A*31	0,036	4,94	5,36	0,42
A*32	0,040	6,08	5,49	0,59
A*33	0,038	6,58	5,34	1,24
A*34	0,007	2,78	1,43	1,35
A*36	0,009	1,39	0,91	0,48
A*43	0,000	0,00	0,00	0,00
A*66	0,025	3,42	1,58	1,84
A*68	0,049	10,38	10,86	0,48
A*69	0,004	0,51	0,18	0,33
A*74	0,016	3,92	1,78	2,14
A*80	0,003	0,00	0,26	0,26

Tabla 2: Porcentajes de cPRA por métodos según incompatibilidades inaceptables aisladas HLA-B

<b>Antígenos HLA inaceptables</b>	<b>Frecuencia poblacional</b>	<b>cPRA %</b>	<b>cPRA de referencia %</b>	<b>Diferencia porcentual</b>
B*07	0,105	15,19	21,44	6,25
B*08	0,049	10,89	16,56	5,67
B*13	0,018	4,05	3,63	0,42
B*14	0,065	12,53	6,91	5,62
B*15	0,068	15,57	12,45	3,12
B*18	0,040	10,76	8,74	2,02
B*27	0,018	3,92	7,02	3,10
B*35	0,098	21,14	17,91	3,23
B*37	0,006	1,90	2,32	0,42
B*38	0,030	3,67	2,91	0,76
B*39	0,019	5,06	5,14	0,08
B*40	0,033	6,33	12,61	6,28
B*41	0,007	2,03	1,88	0,15
B*42	0,028	2,40	2,11	0,29
B*44	0,109	22,78	23,75	0,97
B*45	0,021	4,30	3,00	1,30
B*46	0,001	0,00	0,35	0,35
B*47	0,007	0,76	0,64	0,12
B*48	0,001	0,51	0,66	0,15
B*49	0,033	6,58	3,42	3,16
B*50	0,019	0,38	2,41	2,03
B*51	0,089	14,56	9,94	4,62
B*52	0,019	4,05	2,44	1,61
B*53	0,033	5,70	4,45	1,25
B*54	0,000	0,00	0,12	0,12
B*55	0,004	1,77	2,36	0,59
B*56	0,007	1,14	1,01	0,13
B*57	0,036	5,57	6,71	1,14
B*58	0,021	4,18	4,39	0,21
B*59	0,000	0,00	0,03	0,03
B*67	0,000	0,13	0,02	0,11
B*73	0,001	0,00	0,07	0,07
B*75	0,000	0,00	0,45	0,45
B*78	0,006	1,01	0,37	0,64
B*81	0,006	1,27	0,53	0,74
B*82	0,003	0,13	0,08	0,05

Tabla 3: Porcentajes de cPRA por métodos según incompatibilidades inaceptables aisladas HLA-DRB1 y DQB1.

<b>Antígenos HLA inaceptables</b>	<b>Frecuencia poblacional</b>	<b>cPRA %</b>	<b>cPRA de referencia %</b>	<b>Diferencia porcentual</b>
DQB1*02	0,263	43,16	36,86	6,30
DQB1*03	0,286	47,34	56,09	8,75
DQB1*04	0,056	6,58	9,54	2,96
DQB1*05	0,180	32,15	26,40	5,75
DQB1*06	0,214	35,82	37,02	1,20
DRB1*01	0,095	18,99	17,05	1,94
DRB1*03	0,121	23,42	21,76	1,66
DRB1*04	0,127	26,71	29,67	2,96
DRB1*07	0,138	24,68	21,82	2,86
DRB1*08	0,058	7,59	9,07	1,48
DRB1*09	0,016	2,66	3,11	0,45
DRB1*10	0,012	2,53	2,61	0,08
DRB1*11	0,096	18,99	18,61	0,38
DRB1*12	0,022	2,53	4,34	1,81
DRB1*13	0,157	25,70	22,24	3,46
DRB1*14	0,019	6,84	6,58	0,26
DRB1*15	0,115	22,15	25,68	3,53
DRB1*16	0,024	3,67	3,86	0,19

La falta de correspondencia de un método nacional para la determinación del cPRA con los valores que devuelven los programas informáticos foráneos se ha descrito por otros grupos de investigación, lo que apoya la necesidad de utilizar los datos de la frecuencia génica del HLA de la población local para un cálculo más preciso (4).

Los cPRA que se determinaron en pacientes en espera de trasplante renal tuvieron un promedio y una mediana de 3,6 y 3,2 puntos porcentuales de diferencia respectivamente con el método de referencia. En los casos con elevado nivel de aloinmunización los cPRA tuvieron mayor similitud entre los diferentes métodos (Tabla 2).

Tabla 4: Porcentajes de cPRA por métodos en pacientes con combinaciones de incompatibilidades inaceptables.

<b>Antígenos HLA inaceptables</b>	<b>cPRA %</b>	<b>cPRA de referencia %</b>	<b>Diferencia porcentual</b>
<u>Paciente 1:</u> A*11, A*23, A*24, A*25, A*26, A*32, A*66, B*15, B*27, B*35, B*37, B*41, B*44, B*45, B*49, B*50, B*53, B*54, B*56, B*57, B*58, B*78, B*82.	88,10	84,26	3,84
<u>Paciente 2:</u> A*02, A*23, A*24, A*25, A*32, B*08, B*15, B*27, B*35, B*37, B*38, B*44, B*45, B*49, B*50, B*53, B*56, B*57, B*58, B*59, B*78, DQB1*06.	95,06	96,87	1,81
<u>Paciente 3:</u> DRB1*01, DRB1*03, DRB1*04, DRB1*09, DRB1*10, DRB1*13, DRB1*14, DRB1*15, DQB1*03, DQB1*04, DQB1*06.	98,10	98,45	0,35
<u>Paciente 4:</u> A*03, A*11, A*25, A*26, A*34, A*66, A*68, DRB1*03, DRB1*08, DRB1*11, DRB1*13, DRB1*14.	83,42	83,71	0,29
<u>Paciente 5:</u> DRB1*03, DRB1*08, DRB1*11, DRB1*12, DRB1*13, DRB1*14.	69,75	67,67	2,08
<u>Paciente 6:</u> B*07, B*27, B*42, B*54, B*55, B*56, B*67, B*73, B*82.	24,50	32,52	8,02
<u>Paciente 7:</u> A*25, A*26, A*34, A*66, A*68	23,42	20,90	2,52
<u>Paciente 8:</u> B*27, B*54, B*55.	5,10	9,40	4,30
<u>Paciente 9:</u> A*02, A*68, B*57.	53,16	58,97	5,81
<u>Paciente 10:</u> DQB1*06, DQB1*03.	72,53	79,34	6,81

#### IV. CONCLUSIONES

Se desarrolló y validó un método cubano para determinar el porcentaje calculado de anticuerpos reactivos contra panel.

#### V. REFERENCIAS

1. Hahn AB, Mackey M, Constantino D, Ata A, Chandolias N, Lopez-Soler R, et al. The new kidney allocation system does not equally advantage all very high cPRA candidates - A single center analysis. Hum Immunol. 2017;78(1):37-40.
2. Baxter-Lowe LA, Kucheryavaya A, Tyan D, Reinsmoen N. CPRA for allocation of kidneys in the US: More candidates >=98% CPRA, lower positive crossmatch rates and improved transplant rates for sensitized patients. Hum Immunol. 2016;77(5):395-402.
3. Cecka JM. Calculated PRA (CPRA): the new measure of sensitization for transplant candidates. Am J Transplant. 2010;10(1):26-9.
4. Chan YP, Wong MWK, Tang LWM, Guo M, Yang W, Ip P, et al. A simplified method of calculating cPRA for kidney allocation application in Hong Kong: a retrospective study. Transpl Int. 2017;30(12):1234-42.
5. Tinckam KJ, Liwski R, Pochinco D, Mousseau M, Grattan A, Nickerson P, et al. cPRA Increases With DQA, DPA, and DPB Unacceptable Antigens in the Canadian cPRA Calculator. Am J Transplant. 2015;15(12):3194-201.