

Qué sabemos de Histocompatibilidad y trasplante en Mendoza?

TEMARIO:

- Introducción a la histocompatibilidad: Donación y trasplante, HLA generalidades. **Bioq. Esp. en Inmunología Paula Sosa Venturi**
- Estudios de histocompatibilidad parte 1: Inscripción LE, tipificación HLA, XM frente a panel. **Bioq. Cesia Salafia**
- Estudios de histocompatibilidad parte 2: operativos de trasplante, seguimiento post trasplante (DSA), rechazo. **Bioq. Esp. en Inmunología Nicolás Juárez**
- Trasplante de CPH: tipos de tx según el donante y según la fuente, injerto vs huésped e injerto vs malignidad. Estudios de histocompatibilidad **Bioq. Esp. en Bioquímica Clínica Florencia Dutto**

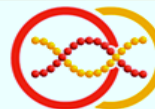


Introducción a la Histocompatibilidad y Trasplante

Laboratorio de Histocompatibilidad del INCAIMEN – Hospital Central
Bioq. Esp. en Inmunología Paula Sosa Venturi



ASOCIACIÓN
BIOQUÍMICA DE MENDOZA



LABORATORIO DE
HISTOCOMPATIBILIDAD
INCAIMEN



Tabla de contenidos

01 Donación y trasplante

02 Generalidades del sistema HLA

The background features a light blue gradient. In the top left, there are three overlapping squares: a dark teal one, a medium teal one, and a light green one. A white rounded square outline is positioned over the light green square. On the right side, there is a large, faint dot pattern. In the bottom right, there are two overlapping rounded squares, one light green and one light teal, with a small teal square next to them.

01

Donación y trasplante

El trasplante de órganos y tejidos consiste en el reemplazo de un órgano o tejido dañado, sin posibilidad de recuperación, por otro sano.

Se utiliza como tratamiento de aquellas enfermedades que anulan la función de un órgano o la reducen de tal manera que la insuficiencia resultante sea incompatible con la vida

ORGANS DONATION



Tipos de trasplantes



Tejidos: córnea, hueso, válvulas cardíacas, piel.

Órganos: corazón, hígado, riñón, pulmón, páncreas, intestino

Células: células de CPH



Tipos de donantes



- Donante vivo

Órganos

CPH

UCB

25 % donantes CPH familiares
Registro CPH 1/40,000

- Donante cadavérico

A corazón batiente

Asistolia

La posibilidad de ser donante de
órganos se da en 4/1000
fallecimientos



InCAIMen: es uno de los 24 organismos jurisdiccionales que forman parte del INCUCAI.



Sistema nacional de información de procuración y trasplante de la República Argentina.

LEY JUSTINA

La ley 27.447, reglamentada en 2018, dispone que “toda persona mayor de 18 años” es donante de órganos o tejidos salvo que haya dejado constancia expresa de lo contrario.

Menores de edad: Voluntad es de los padres.
Expresión negativa: Registro de no donantes.



Ministerio de Salud
Argentina



Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina

Registro Nacional de Procuración y Trasplante Reporte de donantes de órganos y tejidos comparativo anual

Fecha de ejecución de la consulta: 28/02/2024 14:23

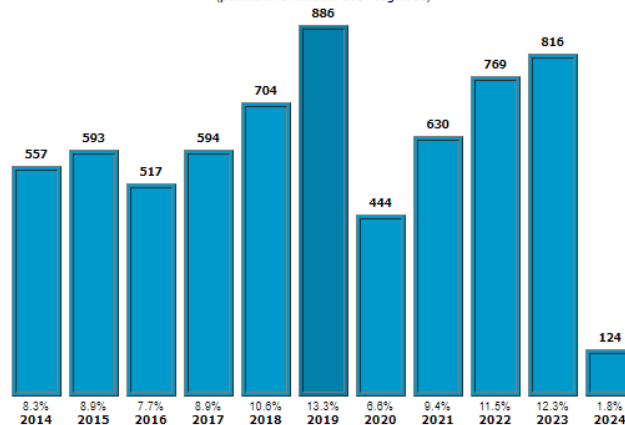
Población general de evaluación: Donantes de órganos y tejidos a partir del 1 de enero de 1998 inclusive.

Criterios de evaluación seleccionados

1. Consultar: DONANTES REALES
2. Establecimiento origen: TODOS

Donantes agrupados por provincia del establecimiento origen

Fila seleccionada: TOTAL
(población evaluada: 6634 registros)



Pacientes en lista de espera



SISTEMA NACIONAL DE INFORMACION DE PROCURACION Y TRASPLANTE DE LA REPUBLICA ARGENTINA
Listas de Espera de Organos y Tejidos

SECCION PUBLICA

Reporte de pacientes inscriptos en lista de espera

Ayuda

Fecha de ejecución de la consulta: 29/02/2024 12:56

Población general de evaluación: Pacientes inscriptos en lista de espera

Criterios de evaluación seleccionados

- Reporte: COMPLETO - TODAS LAS LISTAS DE ESPERA
- Situación en lista de espera: PACIENTES INSCRIPTOS EN LISTA DE ESPERA



Ministerio de Salud
Argentina



Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina
Listas de espera de órganos y tejidos
Reporte de pacientes inscriptos en lista de espera

Fecha de ejecución de la consulta: 29/02/2024 13:03

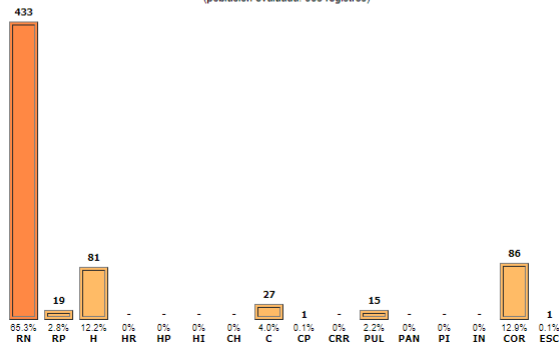
Población general de evaluación: Pacientes inscriptos en lista de espera

Criterios de evaluación seleccionados

- Reporte: COMPLETO - TODAS LAS LISTAS DE ESPERA
- Situación en lista de espera: PACIENTES INSCRIPTOS EN LISTA DE ESPERA

Pacientes agrupados por región INCUIAI de residencia

Fila seleccionada: CUYO
(población evaluada: 663 registros)



Ministerio de Salud
Argentina



Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina
Listas de espera de órganos y tejidos
Reporte de pacientes inscriptos en lista de espera

Fecha de ejecución de la consulta: 29/02/2024 13:05

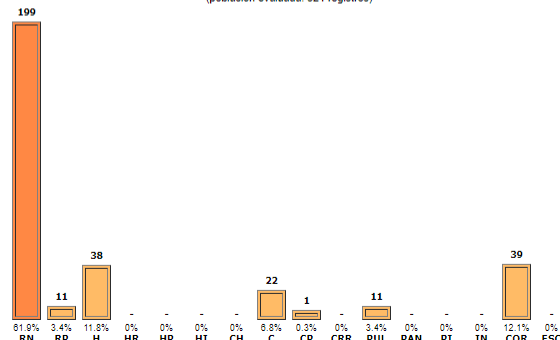
Población general de evaluación: Pacientes inscriptos en lista de espera

Criterios de evaluación seleccionados

- Reporte: COMPLETO - TODAS LAS LISTAS DE ESPERA
- Situación en lista de espera: PACIENTES INSCRIPTOS EN LISTA DE ESPERA

Pacientes agrupados por provincia de residencia

Fila seleccionada: MENDOZA
(población evaluada: 321 registros)



Número de trasplantes por año



Ministerio de Salud
Argentina

incucai

Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina

Registro Nacional de Procuración y Trasplante

Reporte de pacientes trasplantados comparativo anual

Fecha de ejecución de la consulta: 29/02/2024 13:12

Población general de evaluación: Pacientes trasplantados a partir del 1 de enero de 1998 inclusive.

Criterios de evaluación seleccionados

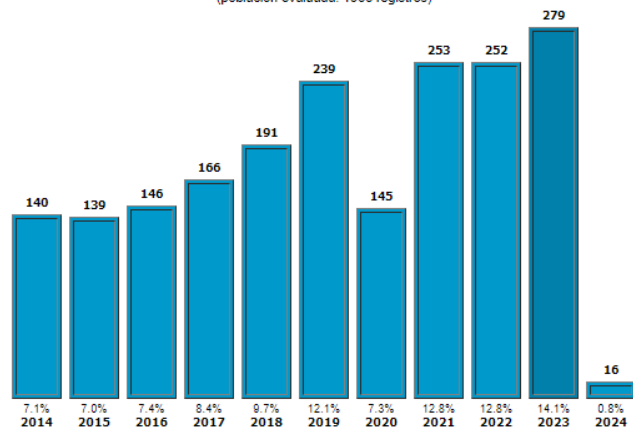
1. Período de evaluación: FECHA DE DESCLAMPEO DEL RECEPTOR

2. Tipo de donante: TODOS

Pacientes agrupados por provincia de residencia

Fila seleccionada: MENDOZA

(población evaluada: 1966 registros)



Referencias:

En el reporte comparativo anual se contabiliza el año actual (que siempre es parcial) y los diez años anteriores consecutivos.

% = Porcentaje de pacientes trasplantados de la fila respecto del total de pacientes evaluados.

PMH = Tasa de pacientes trasplantados por millón de habitantes (disponible sólo para los agrupamientos por región INCUCAI o provincia). Utiliza la población del año 2024 y muestra la tasa del año 2024. Las poblaciones pueden consultarse en el reporte Datos demográficos y definiciones base. Fuente INDEC (Análisis Demográfico Serie 31 "Proyecciones provinciales de población por sexo y grupos de edad 2001-2015").



Ministerio de Salud
Argentina

incucai

Sistema Nacional de Información de Procuración y Trasplante de la República Argentina

Registro Nacional de Procuración y Trasplante

Reporte de pacientes trasplantados por período

Fecha de ejecución de la consulta: 15/02/2024 11:13

Población general de evaluación: Pacientes trasplantados a partir del 1 de enero de 1998 inclusive.

Criterios de evaluación seleccionados

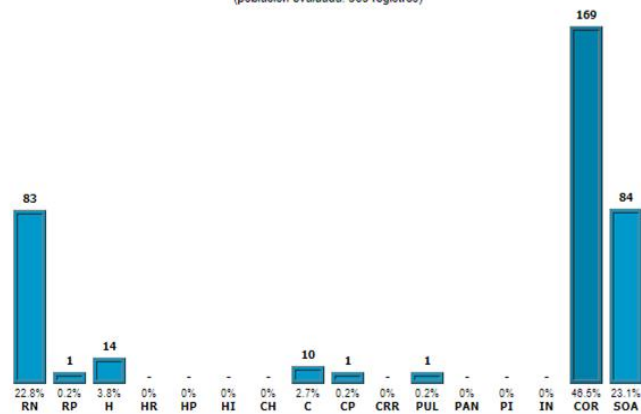
1. Período de evaluación: FECHA DE DESCLAMPEO DEL RECEPTOR: OTRO AÑO: desde 1-1-2023 hasta 31-12-2023

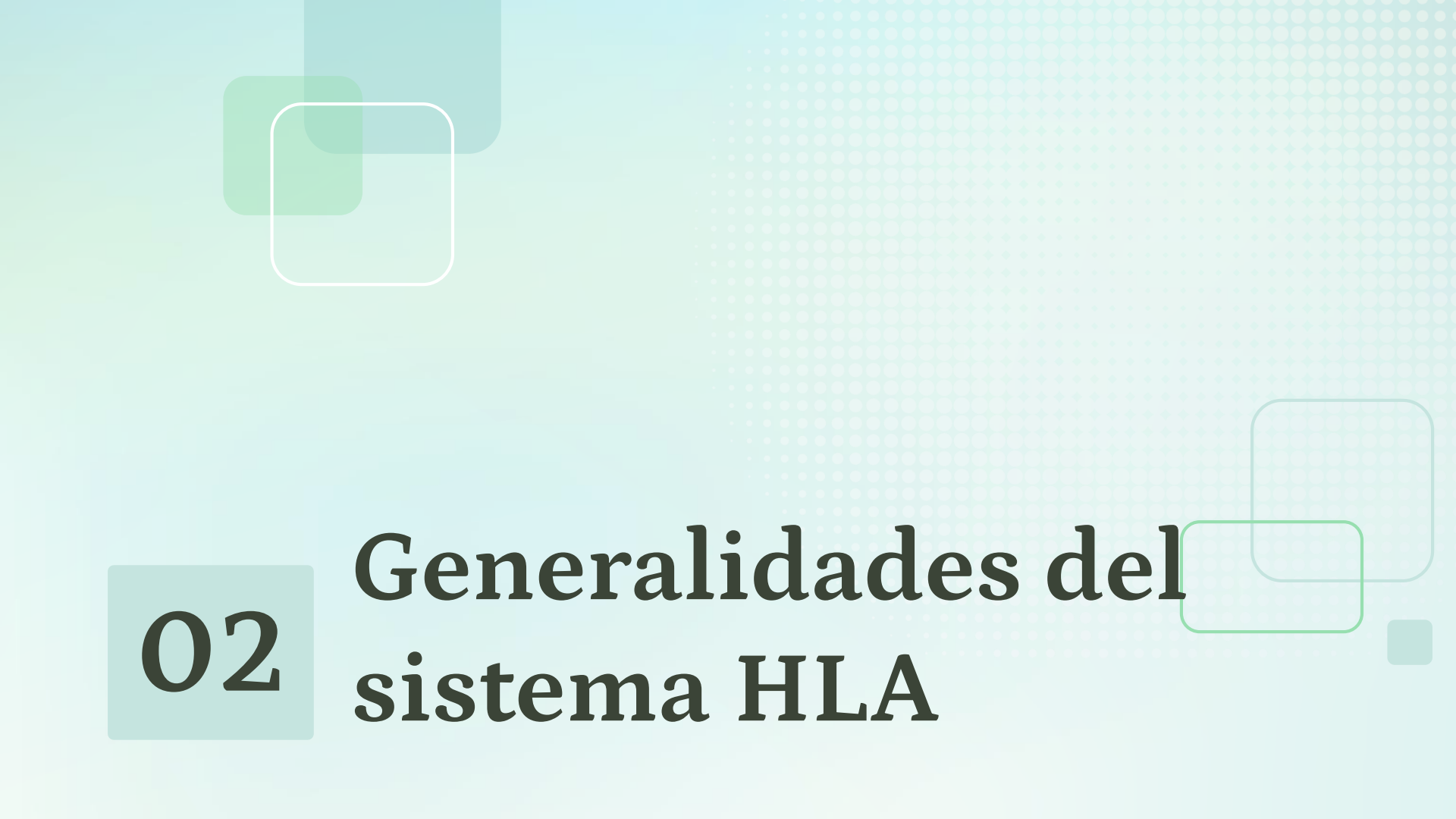
2. Tipo de donante: TODOS

Pacientes agrupados por provincia de residencia

Fila seleccionada: MENDOZA

(población evaluada: 363 registros)



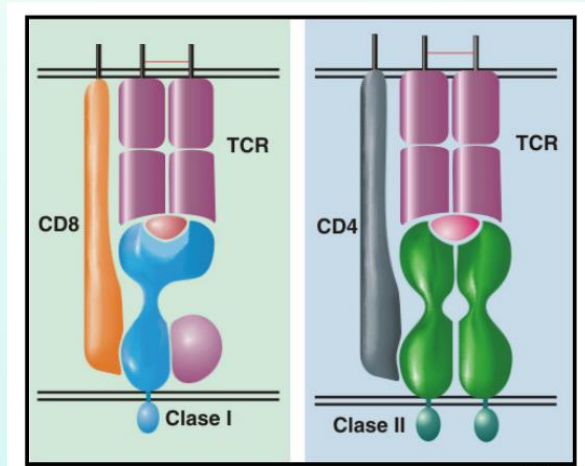
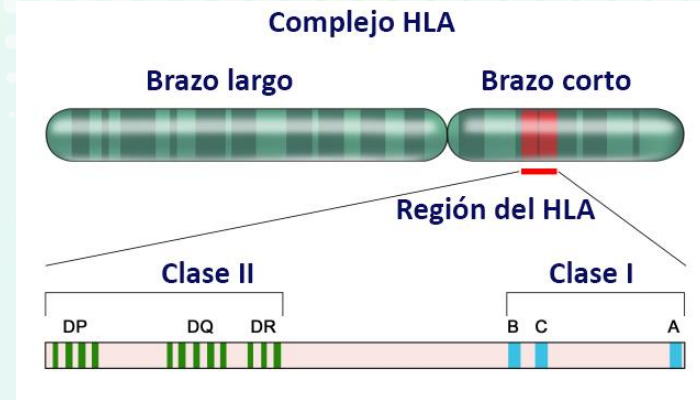


02

Generalidades del sistema HLA

CMH en humano: HLA

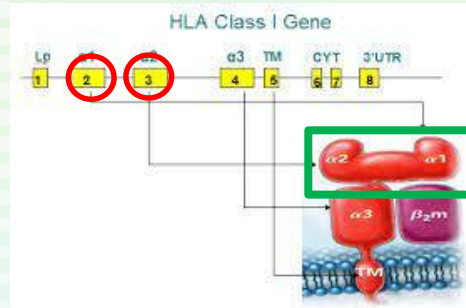
Son un grupo de genes ubicados en el cromosoma 6, que codifican para las moléculas HLA, que son glicoproteínas de superficie celular que se comportan como *aloantígenos*, generando una *respuesta inmune*.



Función: **Presentación de Ag**

Estructura

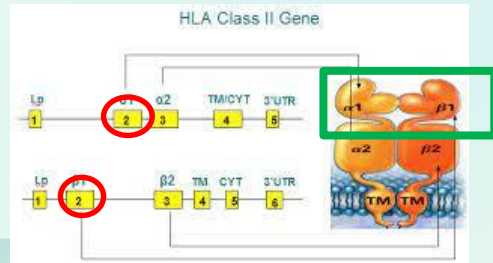
Moléculas de clase I



Hay 3 genes que codifican para las moléculas de clase I clásicas: ***HLA-A***, ***HLA-B*** y ***HLA-C***

Se encuentran en todas las células nucleadas y plaquetas

Moléculas de clase II



Hay 3 genes que codifican para las moléculas de clase II: ***HLA-DR***, ***HLA-DQ*** y ***HLA-DP***

Se expresan en las células presentadoras de Ag: células dendríticas, LB y macrófagos

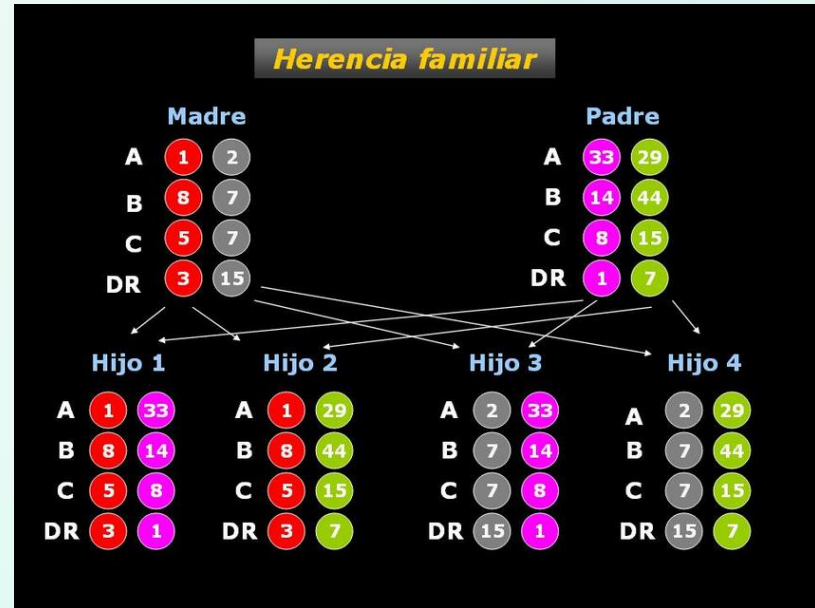
Características

Poligenismo, polimorfismo

HLA Class I				
Gene	A	B	C	
Alleles	7793	9274	7761	
Proteins	4548	5580	4311	
Nulls	404	325	344	

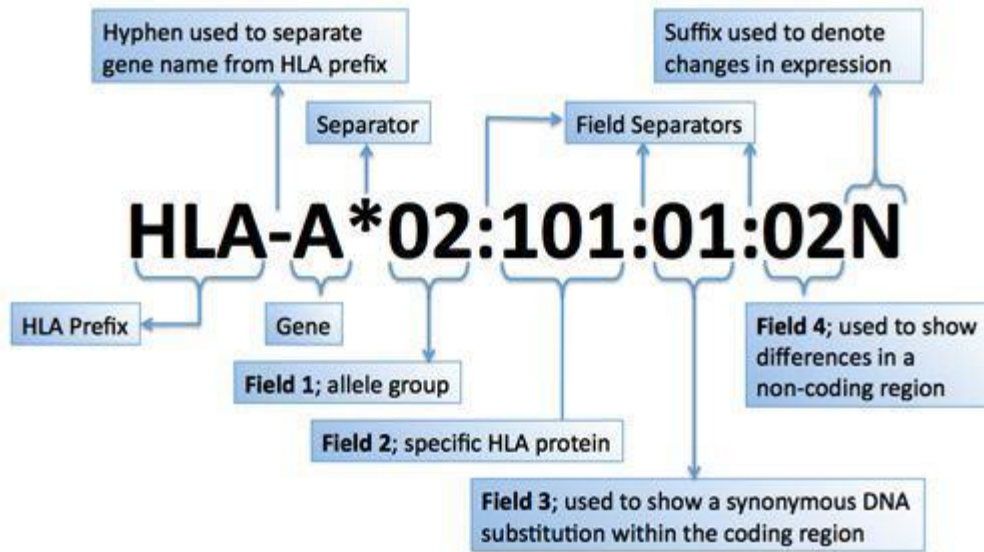
HLA Class II				
Gene	DRA	DRB	DQB1	DPB1
Alleles	46	4419	2439	2332
Proteins	5	2903	1501	1361
Nulls	0	192	109	121

Codominancia



Poco probable que 2 individuos no relacionados compartan los mismos Ag

Nomenclatura



© SGE Marsh 04/10

A: locus

02: grupo de alelos (eq. serológico)

02: 01: alelo específico, subtipo

02: 01: 01 alelo que difiere por una mutación sinónima

02: 01: 01: 01 alelo que tiene una mutación fuera de la región codificante

02: 01 N alelo nulo, no se expresa

02: 01 L alelo que codifica para proteína con expresión baja

Muchas gracias!



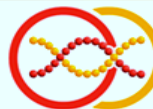
Estudios de Histocompatibilidad parte I

Inscripción en lista de espera

Laboratorio de Histocompatibilidad del INCAIMEN – Hospital Central
Bioq. Cesia Salafia



ASOCIACIÓN
BIOQUÍMICA DE MENDOZA



LABORATORIO DE
HISTOCOMPATIBILIDAD
INCAIMEN



El ingreso a lista de espera es un proceso que tiene **6 etapas**:

- **1: Indicación de evaluación pre-trasplante**
- **2: Autorización de estudios pre-trasplante**
- **3: Evaluación pre-trasplante**
- **4: Estudios inmunológicos (HLA)**
- **5: Autorización del financiador para realizar el trasplante**
- **6: Efectivización de inscripción en lista de espera**

Para estar efectivamente inscripto se deben completar **TODAS** las etapas

Se puede seguir el paso a paso del proceso de inscripción ingresando al [SINTRA](#) con una clave personal.



1: Indicación de evaluación pre trasplante

El médico del equipo de trasplante o del centro de diálisis indica la evaluación pre-trasplante. Este proceso se registra en el SINTRA y se emite una constancia que debe firmar el paciente y el médico.

2: Autorización de estudios pre-trasplante

Dentro de los 30 días posteriores a la indicación de evaluación pre-trasplante, el financiador (Obra Social, Prepaga, INCLUIR SALUD, Programas provinciales, etc) debe autorizar la evaluación y determinar el establecimiento en el que se realizarán los estudios pretrasplante.

3: Evaluación Pre trasplante

Se inicia con los estudios indicados por el médico tratante del equipo de trasplante (grupo y factor, análisis clínicos, serología, imágenes, cardiológicos, odontológicos, etc)

Los resultados de la evaluación pueden ser:

- “Apto para trasplante” (se continua con el proceso de inscripción)
- “No apto transitorio” (se mantiene el proceso abierto)
- “No apto definitivo” (se interrumpe el proceso)

4: Estudios inmunológicos

Se realizan en los laboratorios habilitados para tal fin y sólo se requieren en las siguientes listas de espera:

- Renal: HLA y Cross Match contra panel.
- Cardíaca: Cross Match contra panel.
- Córnea: Cross Match contra panel (sólo si el médico lo requiere)

Las listas de espera que no requieren estudios inmunológicos avanzan directamente a la etapa siguiente.

5: Autorización del financiador para realizar el trasplante

Una vez completado los estudios requeridos, la cobertura social debe autorizar el trasplante dentro de los siguientes 30 días corridos.

6: Efectivización de la inscripción

Una vez registrada la autorización y fiscalizada la documentación, el Organismo Provincial correspondiente (InCAIMen) efectiviza la inscripción en lista de espera.

⇒ **En este momento ya empieza a participar de los procesos de distribución de órganos y tejidos.**

Una vez inscripto en LE se debe realizar una vez al año la evaluación anual obligatoria. El equipo de trasplante solicita los estudios correspondientes para actualizar la información en el SINTRA.

Cuando no se actualizan los estudios, el sistema informático le otorga una "exclusión transitoria" y el paciente no participa de los procesos de donación.

Paciente en proceso de inscripción

Situación del proceso de inscripción (formulario solo lectura)

Lista de espera: **RENAL**

Situación del proceso de inscripción: **EVALUACION PRETRASPLANTE FINALIZADA**

Fecha de inscripción: **-NO INSCRIPTO-**

Situación clínica: **ELECTIVO / ELECTIVO**

Método de inscripción: **NORMAL**



FISCALIZADO

Paso1 - INDICACION DE EVALUACION PRE-TRASPLANTE

Fecha de indicación: **07-12-2023 10:40**

Responsable:

Institución:

HEMODIAL:

Completó:

C20: 4917795 Reg: 07-12-2023 10:40

Responsable:

Organismo:



FISCALIZADO

Paso2 - AUTORIZACION DE FINANCIAMIENTO PARA LA EVALUACION PRE-TRASPLANTE

Fecha de autorización: **23-01-2024 09:10**

Responsable:

Institución:

Completó:

C21: 4958014 Reg: 23-01-2024 09:10

Responsable:

Organismo:



FISCALIZADO

Paso3 - EVALUACION PRE-TRASPLANTE

Fecha de evaluación: **01-02-2024 12:27**

Responsable:

Institución:

Completó:

C22: 4967936 Reg: 01-02-2024 12:27

Responsable:

Organismo:

Habilitar E



PENDIENTE

Paso4 - ESTUDIOS INMUNOLOGICOS

Fecha de estudios:

Responsable:

Institución:

Completó:

C23: -sin dato- Reg:

Responsable:

Organismo:

Habilitar Estudios Inmunológicos



PENDIENTE

Paso5 - AUTORIZACION DE FINANCIAMIENTO PARA EL TRASPLANTE

Fecha de autorización:

Responsable:

Institución:

Completó:

C21: -sin dato- Reg:

Responsable:

Organismo:



PENDIENTE

Paso6 - INSCRIPCION

Fecha de inscripción: **-NO INSCRIPTO-**

Responsable:

Organismo:

Paciente inscripto en lista de espera

Situación del proceso de inscripción (formulario solo lectura)

Lista de espera: **RENAL**
Situación del proceso de inscripción: **INSCRIPTO**
Fecha de inscripción: **31-07-2023 14:04**
Situación clínica: **ELECTIVO / ELECTIVO**
Método de inscripción: **NORMAL**



FISCALIZADO Paso1 - INDICACION DE EVALUACION PRE-TRASPLANTE

Fecha de indicación: **21-10-2022 13:17** C20: **4786408** Reg: 31-07-2023 14:04
Responsable: [Redacted] Responsable: [Redacted]
Institución: [Redacted] Organismo: [Redacted]
Completó: [Redacted]



FISCALIZADO Paso2 - AUTORIZACION DE FINANCIAMIENTO PARA LA EVALUACION PRE-TRASPLANTE

Fecha de autorización: **25-10-2022 12:00** C21: **4519164** Reg: 28-10-2022 12:25
Responsable: [Redacted] Responsable: [Redacted]
Institución: [Redacted] Organismo: [Redacted]
Completó: [Redacted]



FISCALIZADO Paso3 - EVALUACION PRE-TRASPLANTE

Fecha de evaluación: **26-07-2023 09:21** C22: **4780594** Reg: 31-07-2023 08:42
Responsable: [Redacted] Responsable: [Redacted]
Institución: [Redacted] Organismo: [Redacted]
Completó: [Redacted]

Habilitar E. Pretrasplante



FISCALIZADO Paso4 - ESTUDIOS INMUNOLOGICOS

Fecha de estudios: **27-07-2023 07:05** C23: **4782118** Reg: 31-07-2023 14:04
Responsable: [Redacted] Responsable: [Redacted]
Institución: [Redacted] Organismo: [Redacted]
Completó: [Redacted]

Habilitar Estudios inmunológicos



FISCALIZADO Paso5 - AUTORIZACION DE FINANCIAMIENTO PARA EL TRASPLANTE

Fecha de autorización: **28-07-2023 09:13** C21: **4783635** Reg: 28-07-2023 11:39
Responsable: [Redacted] Responsable: [Redacted]
Institución: [Redacted] Organismo: [Redacted]
Completó: [Redacted]

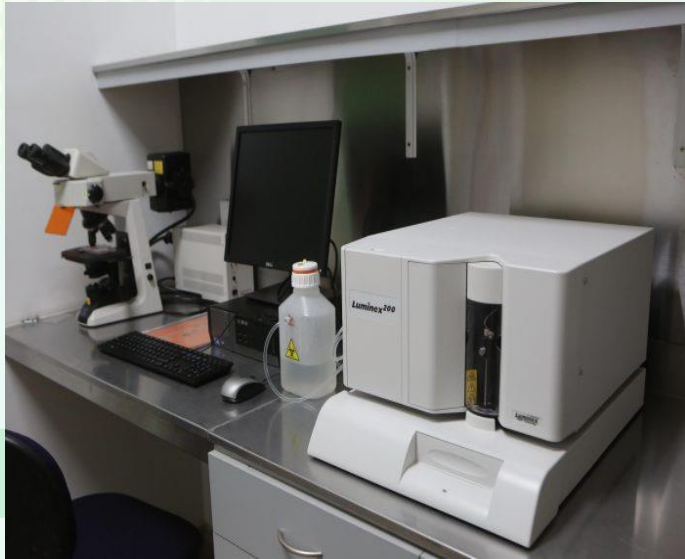


FISCALIZADO Paso6 - INSCRIPCION

Fecha de inscripción: **31-07-2023 14:04**
Responsable: [Redacted]
Organismo: [Redacted]

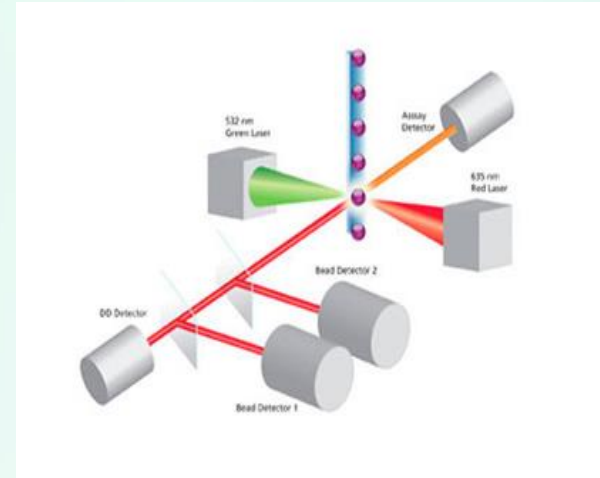
Estudios inmunológicos

- Tipificación HLA: (locus A,B,DR y DQ): por biología molecular PCR-SSO (sequence specific oligonucleotide) -Luminex®
- Detección de anticuerpos: Cross match frente a panel por fase sólida-Luminex®



Luminex®

- Se basa en los principios del citómetro de flujo.
- Se utilizan microesferas de poliestireno (perlas) que contienen fluorocromos de diferente intensidad, dando una señal única a cada una.
- Se compone de 2 láseres. (uno identifica a la perla y el otro a la que reaccionó)



Tipificación HLA

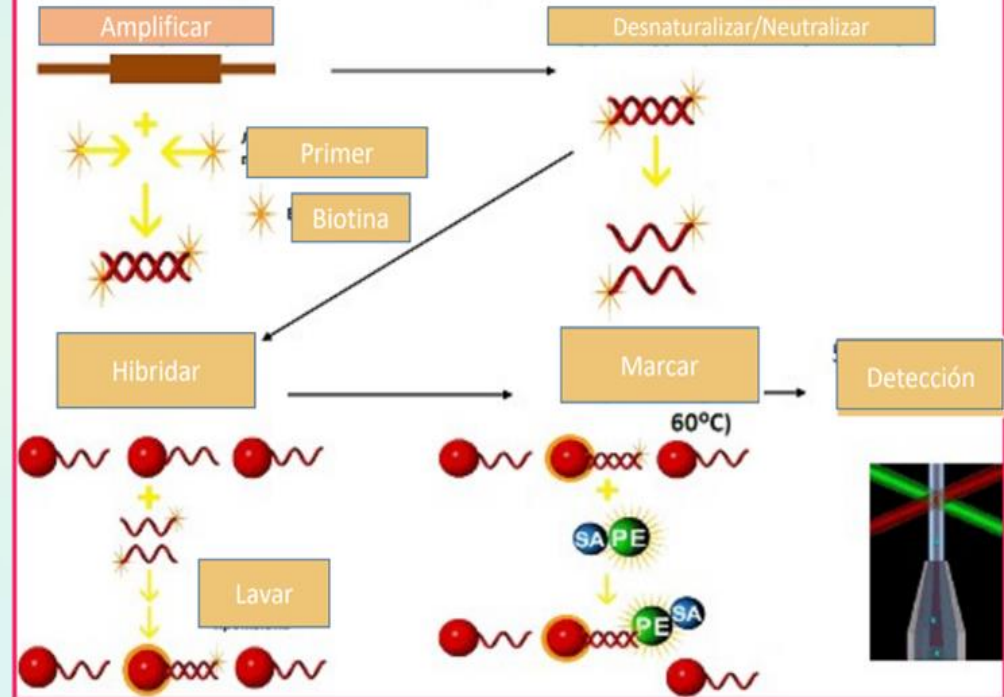
Muestra: sangre con EDTA(6ml)

Procedimiento:

- *Extracción ADN
- *PCR(primers con biotina)
- *Hibridización con sondas de oligonucleótidos marcadas(beads)
- *Conjugación y detección



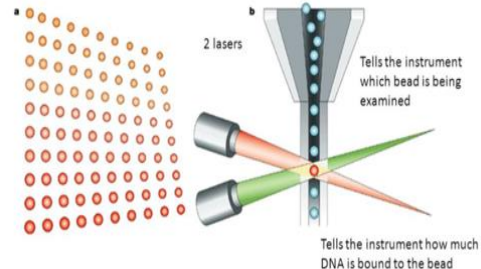
LABType SSO



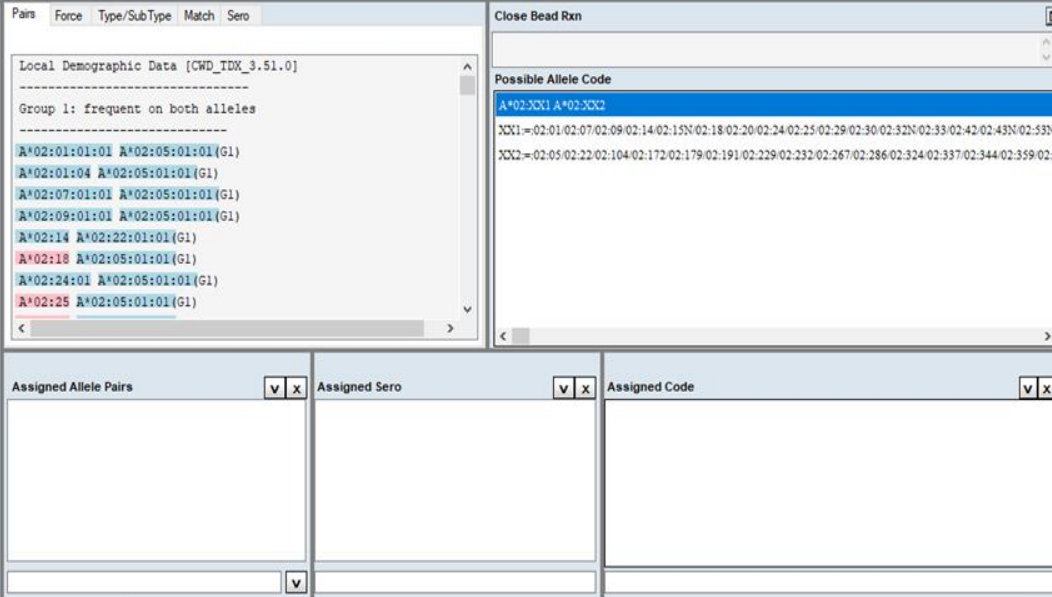
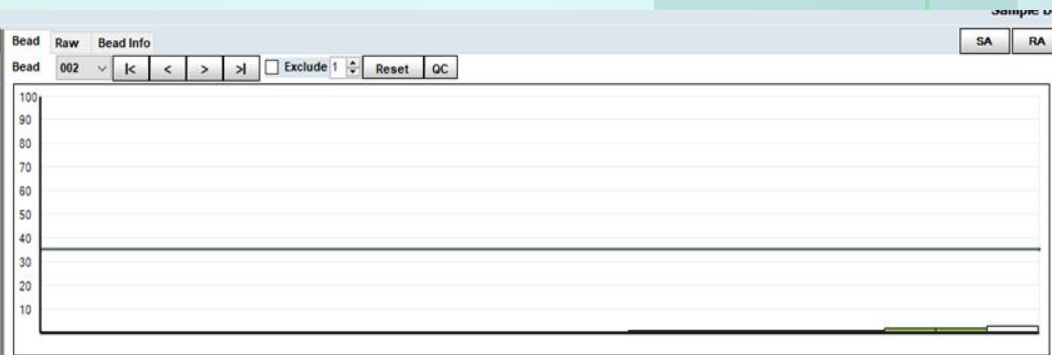
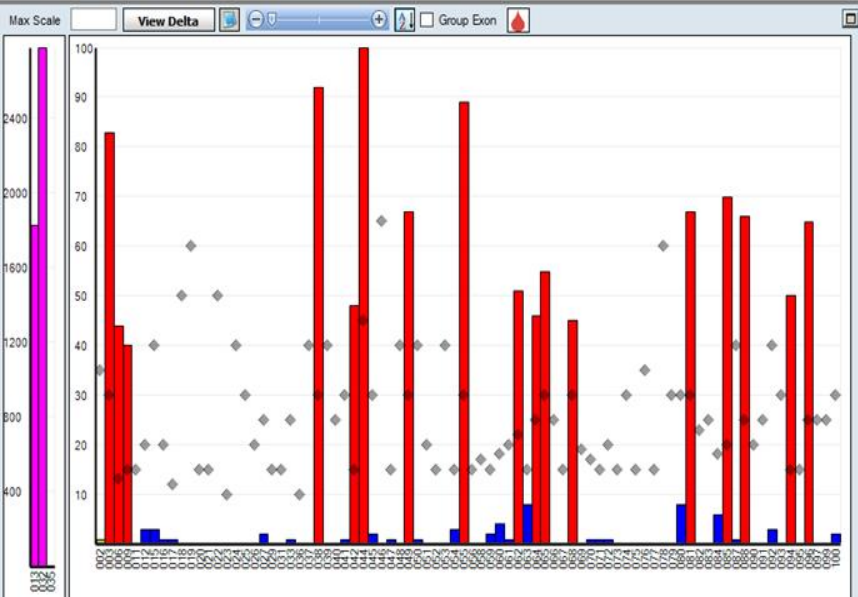
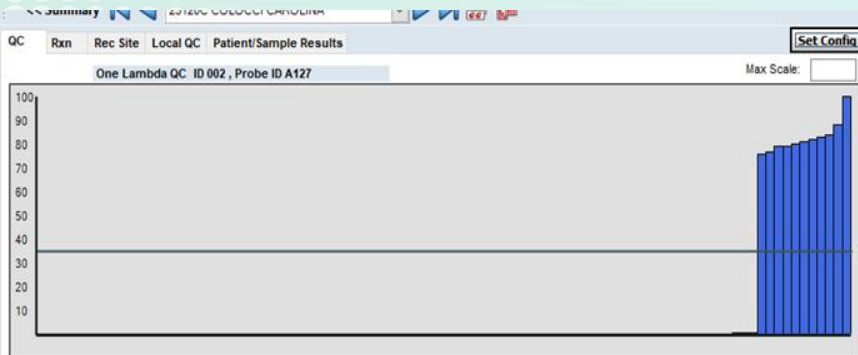
HLA typing by SSO using Luminex platform

100 types of microspheres distinguished by fluorescence emission signature

Each microsphere type is coated with different sequence specific oligonucleotide (HLA allele)

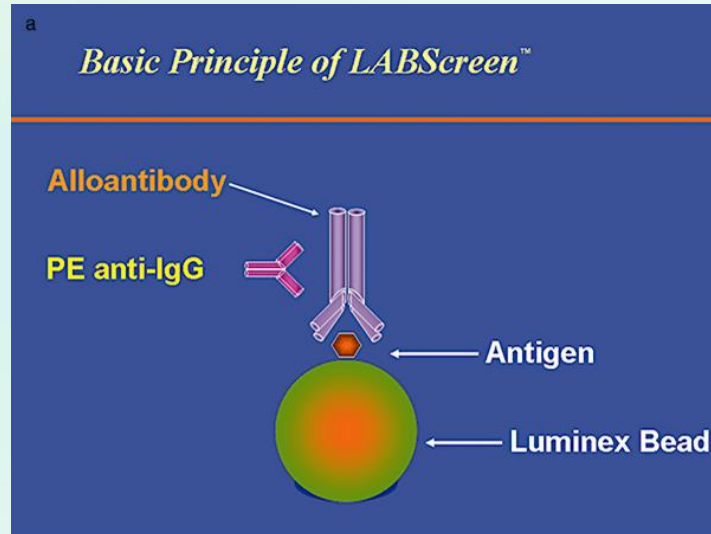


Un láser identifica cada bead de la mezcla y el otro la señal de fluorescencia que emiten las beads que reaccionaron por complementariedad con el ADN amplificado



Detección de anticuerpos: Cross match frente a panel por fase sólida

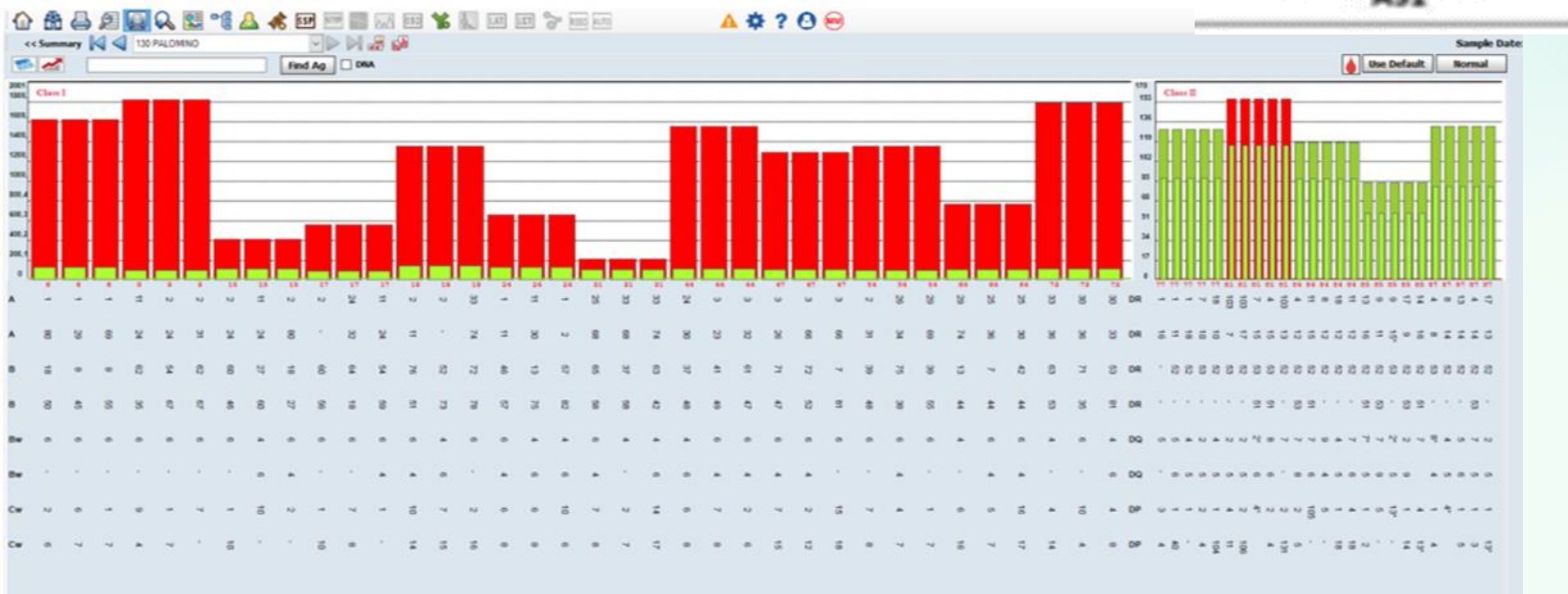
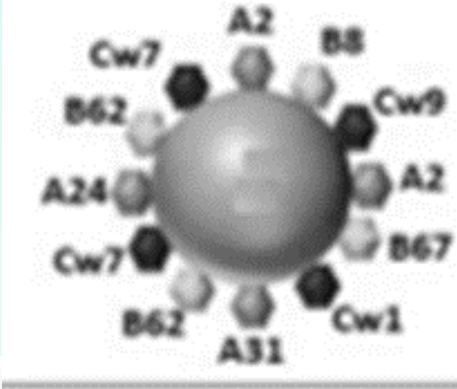
- El suero del paciente se enfrenta con Ag HLA de clase I y II fijados a una fase sólida (suspensión de perlas o beads de poliestireno con diferente concentración de fluorocromos en su interior)
- Los Acs anti HLA se unirán a los Ag de las perlas y se pondrán de manifiesto con el agregado de una anti-IgG humana marcada con un fluorocromo (r-ficoeritrina PE)
- Existen 3 tipos : Screening,PRA y SAB



Screening:-Determina la presencia o ausencia de ac anti HLA clase I y/o II

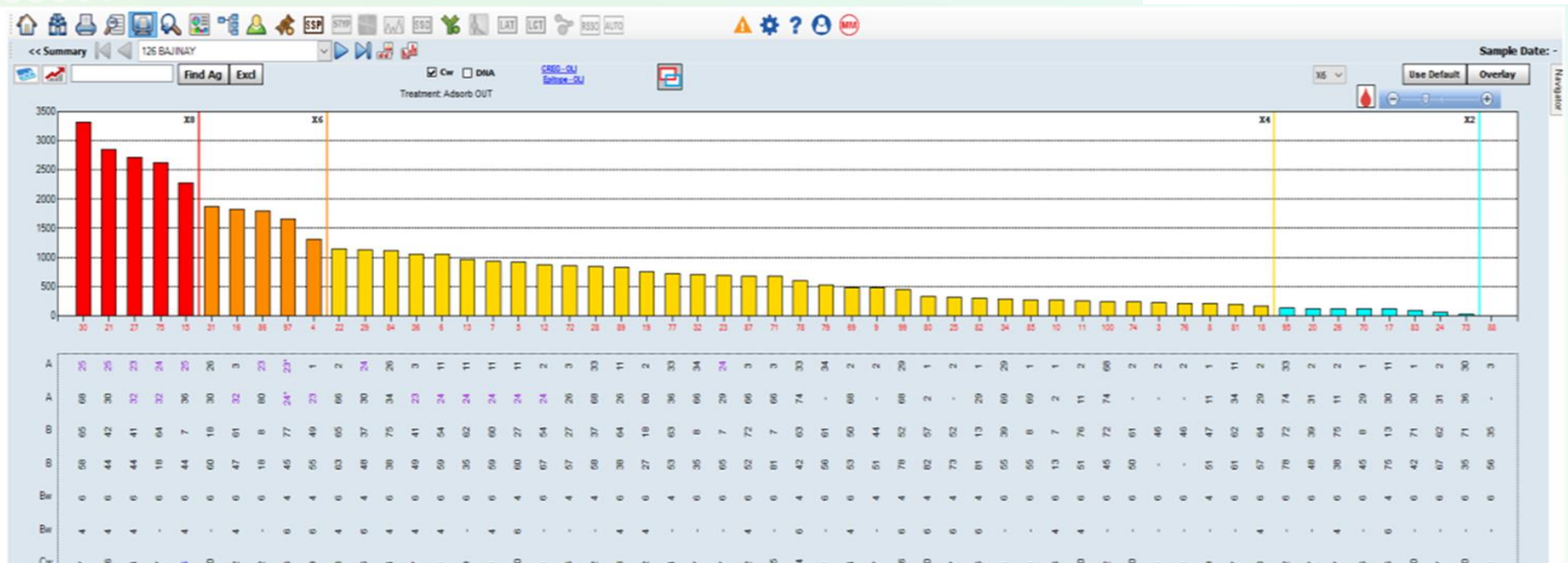
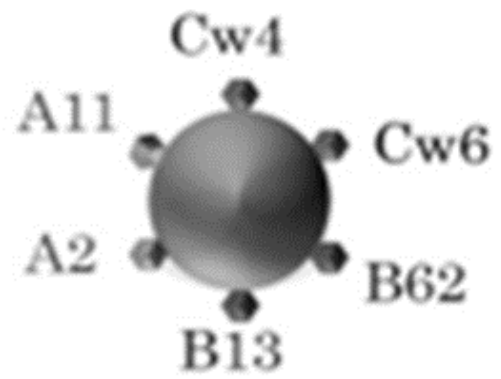
-Cada perla posee una mezcla de antígenos HLA de clase I o clase II
provenientes de células de varios individuos

-Resultado: negativo/positivo



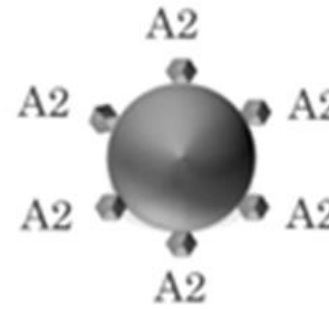
PRA(panel reactive antibody):

- Indica el % de reactividad del suero del paciente contra un panel de Ag
- las perlas contienen antígenos purificados de un individuo teniendo así un fenotipo HLA por cada perla
- Se informa: %PRA



SAB(Single Antigen bead):

- Permite identificar contra qué **Ag específicos** están dirigidos los Ac del paciente
- Cada perla contiene múltiples copias de un único antígeno HLA recombinante



Ficha de inscripción en lista de espera RENAL

Ficha de Inscripción #466440

311551

[Ayuda](#) [Agenda](#) [Instructivo](#)

Potencial receptor	Indicación de evaluación pretrasplante	Autorización de evaluación	Evaluación pretrasplante	Estudios Inmunológicos	Autorización de trasplante	Inscripción
--------------------	--	----------------------------	--------------------------	------------------------	----------------------------	-------------

FORMULARIO 23-LE - ESTUDIOS INMUNOLOGICOS (formulario editable - * datos obligatorios)

Laboratorio: **LABORATORIO DE HISTOCOMPATIBILIDAD - INCAIMEN INST COORDINADOR DE ABLACION E IMPLANTE DE MENDOZA**
Nro de laboratorio / Provincia: **20012 / MENDOZA**
Fecha de registro: **24-01-2024 14:10**
* Inmunólogo responsable: **[REDACTED]**

Histocompatibilidad

Antígenos HLA Clase I:

* Fecha: 11 - 01 - 2024 00 : 00 (dd-mm-aaaa hh:mm formato 24hs)

* Método: MOLECULAR-MEDIANA A BAJA RESOLUCIÓN - LUMINEX ▼

* A 25 / 32

* B 35 /

B largos 6 /

C /

Antígenos HLA Clase II:

* Fecha: 11 - 01 - 2024 00 : 00 (dd-mm-aaaa hh:mm formato 24hs)

* Método: MOLECULAR-MEDIANA A BAJA RESOLUCIÓN - LUMINEX ▼

* DR 13 / 14

DR largos /

DQ 5 / 6

DP /

Cross match contra panel

* Fecha: 11 - 01 - 2024 00 : 00 (dd-mm-aaaa hh:mm formato 24hs)

* Método: LUMINEX - FASE SOLIDA ▼

Resultado anti clase I: 0 % (valor entero de 0 a 100)

Resultado anti clase II: 0 % (valor entero de 0 a 100)

* Resultado: 0

Antígenos no deseados[Agregar nuevo](#)**No se han encontrado resultados de antígenos no deseados**

Muchas gracias!



Estudios de histocompatibilidad II

Operativos y seguimiento post trasplante (DSA)

Laboratorio de Histocompatibilidad del INCAIMEN – Hospital Central
Bioq. Nicolás Juárez – Esp. en Inmunología



ASOCIACIÓN
BIOQUÍMICA DE MENDOZA



LABORATORIO DE
HISTOCOMPATIBILIDAD
INCAIMEN



Tabla de contenidos

01 Operativos de trasplante (Laboratorio)

02 Seguimiento post-trasplante (DSA)

03 Rechazo del injerto



01

Operativos de trasplante

Paso a paso de la donación de órganos

- 1 Certificación de la muerte
- 2 Tratamiento de los órganos
- 3 La voluntad
- 4 Estudios bioquímicos, serológicos y de histocompatibilidad
- 5 Asignación y Ablación
- 6 Trasplante

Estudios bioquímicos



- Hemograma
- Glucemia
- Urea
- Creatinina
- Gases en Sangre
- TP y APTT
- Hepatograma
- LDH
- Amilasemia
- CPK y CPK-Mb
- Orina completa

Si todo se encuentra dentro de valores normales, se procede a realizar los estudios de histocomp.

Estudios serológicos



- SARS-CoV 2
- Hepatitis B
- Hepatitis C
- HIV I y II
- HTLV I y II
- Sífilis
- Chagas
- Toxoplasmosis
- Brucelosis
- Epstein Barr
- CMV

Estudios de histocompatibilidad

Tipificación HLA



Se estudian los loci A, B, DRB1 y DQB1.

La tipificación del potencial donante se realiza por la técnica de SSP.

Cross-match



*Se enfrentan las células del **potencial donante** contra los sueros de los **potenciales receptores***

Existen 2 técnicas:

- XM por Citotoxicidad Dependiente de Complemento. (CDC)
- XM por Citometría de Flujo. (CF)

Tipificación HLA

EXTRACCIÓN DE ADN



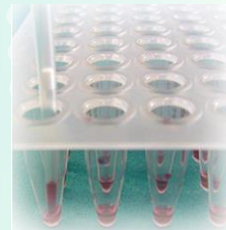
- SALTING OUT
- EN COLUMNA (MANUAL O AUTOMATIZADO)



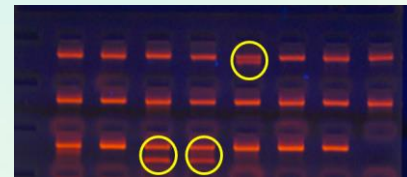
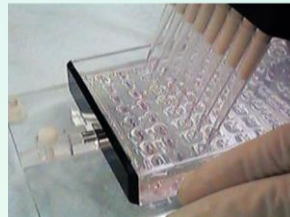
AMPLIFICACIÓN POR PCR SSP



- PLACAS DE 96 POCILLOS
- CADA UNO CONTIENE: PRIMERS ESPECÍFICOS DE UN ALELO Y/O GRUPO ALÉLICO Y UN PAR DE CONTROL.



CORRIDA ELECTROFORÉTICA
EN GEL DE AGAROSA



INTERPRETACIÓN DEL GEL



- SE ANALIZAN LOS PATRONES DE BANDEO OBTENIDOS.
- ASIGNACIÓN DE LOS ALELOS CORRESPONDIENTES

INFORME



INFORME



SISTEMA NACIONAL DE INFORMACION DE PROCURACION Y TRASPLANTE DE LA REPUBLICA ARGENTINA

Registro Nacional de Procuración y Trasplante

Histocompatibilidad

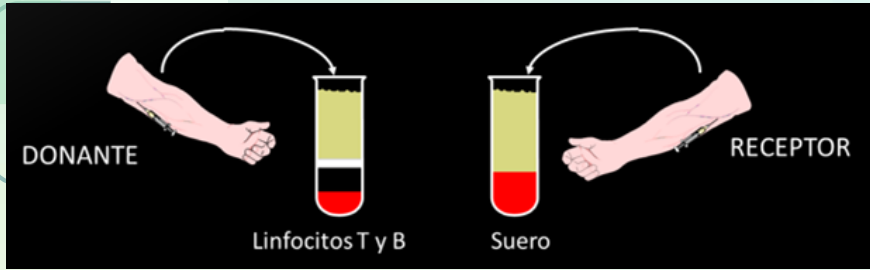
Laboratorio: **LABORATORIO DE HISTOCOMPATIBILIDAD - INCAIMEN INST COORDINADOR DE ABLACION E IMPLANTE DE MENDOZA**
Nro de laboratorio: **20012**
Provincia: **MENDOZA**
Responsable:
Antígenos HLA Clase I:
Fecha y hora: **07-02-2024 00:00**
Método: **MOLECULAR- BAJA RESOLUCIÓN - SSP**

A	24 / 30	B	27 / 18
Bw	4 / 6		

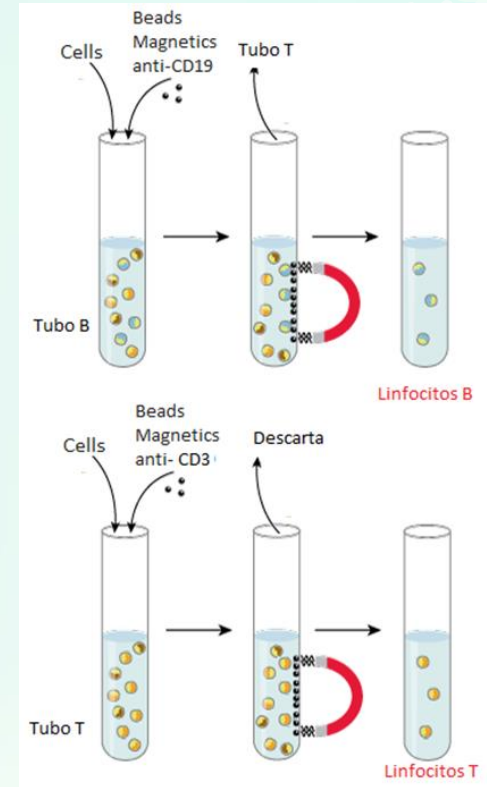
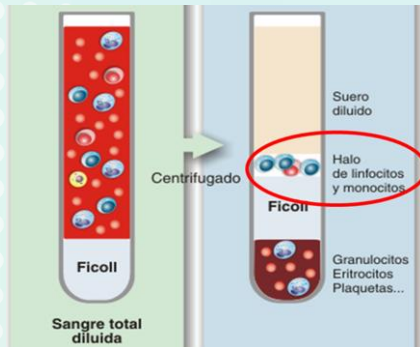
Antígenos HLA Clase II:
Fecha y hora: **07-02-2024 00:00**
Método: **MOLECULAR- BAJA RESOLUCIÓN - SSP**

DRB1	11 / 15	DRB3	52 / -sin dato-
DRB4	-sin dato- / -sin dato-	DRB5	51 / -sin dato-
DQB	6 / 7		

Marcación con Beads Magnéticas



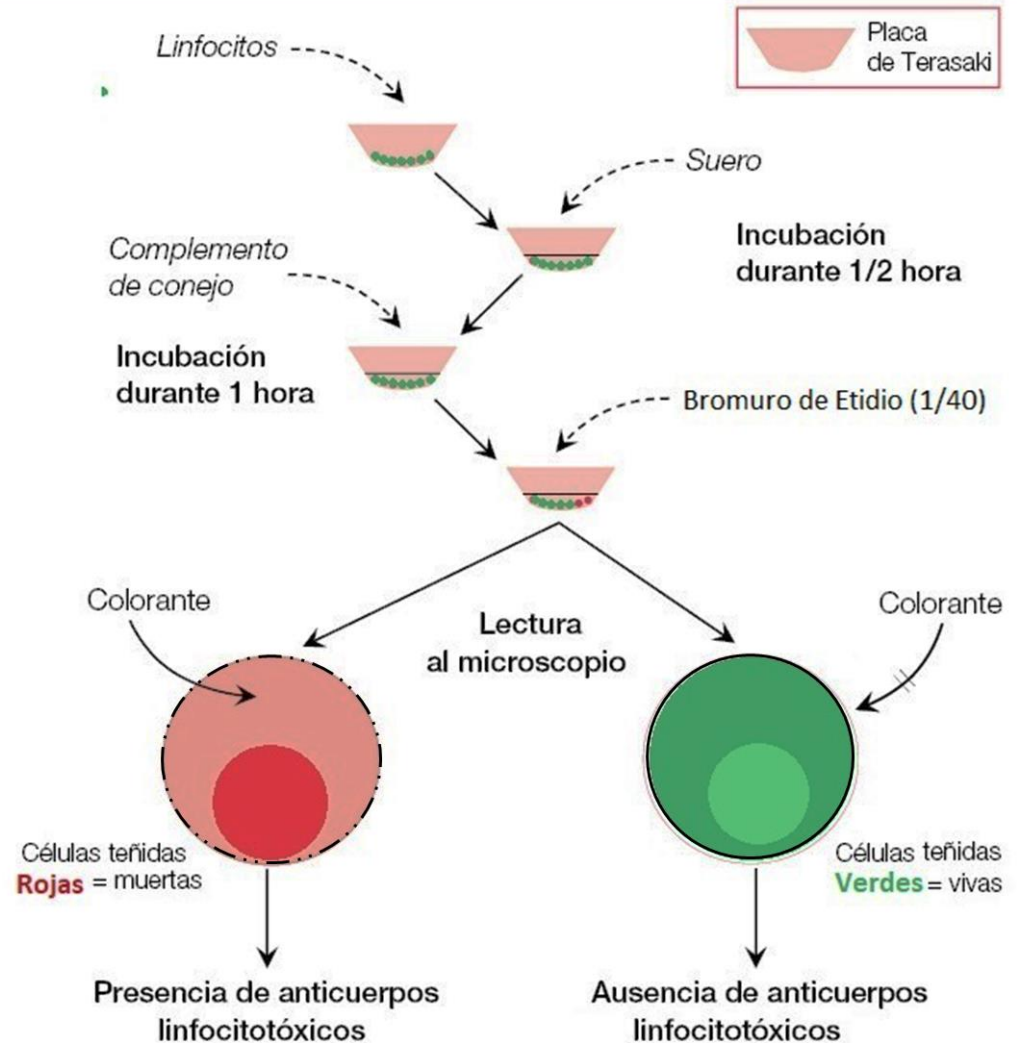
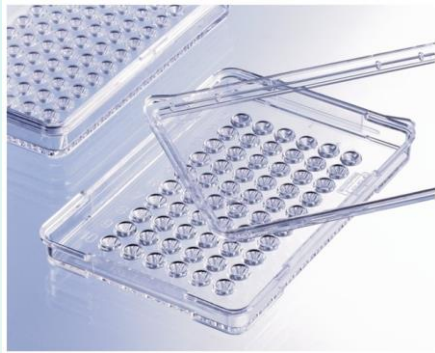
Obtención de Células Mononucleares



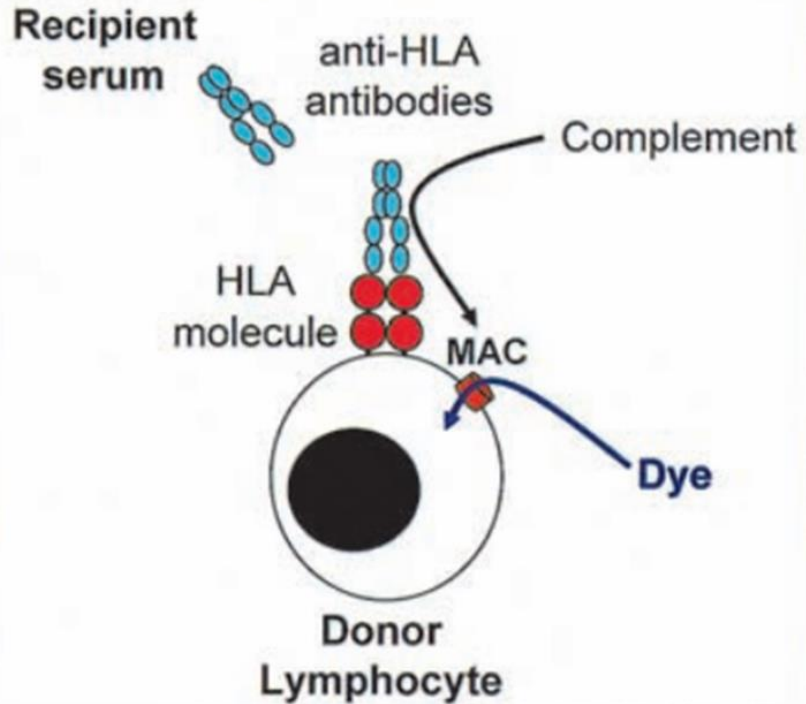
Prueba de Microlinfocitotoxicidad de Terasaki (Citotoxicidad Dependiente de Complemento)

Detección de anticuerpos.

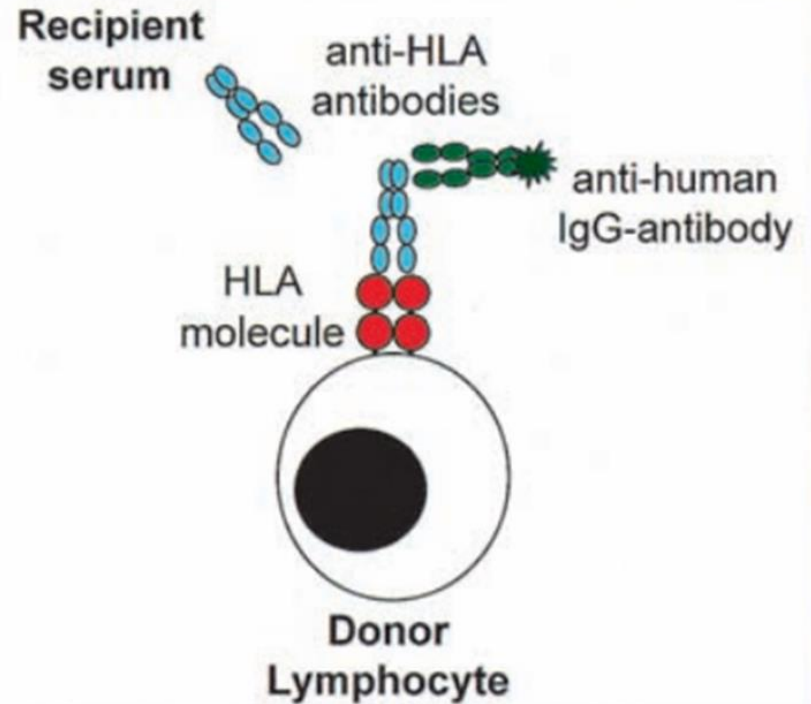
- Aloanticuerpos fijadores de complemento: IgG1 y IgG3.
- Autoanticuerpos: IgM (interferentes)
- DTT: Rompe enlaces disulfuro que unen al pentámero de IgM.



CDC crossmatch



Flow cytometric crossmatch





02

Seguimiento Post- trasplante (DSA)

*La **biopsia** y el estudio de **anticuerpos** son dos herramientas esenciales en el seguimiento postrasplante*

Tipos de detección de Alo-Anticuerpos

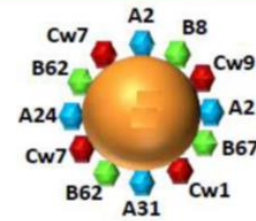
+ Sensibilidad



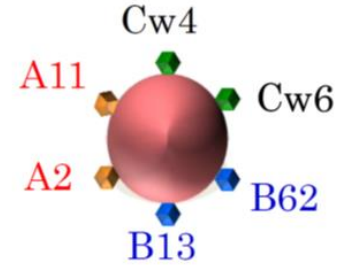
Prueba de Microlinfocitotoxicidad de Terasaki.
ELISA.
Citometría de Flujo.
Luminex.

LUMINEX

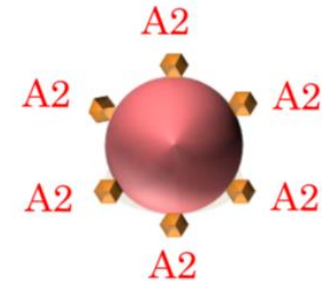
SCREENING



PRA

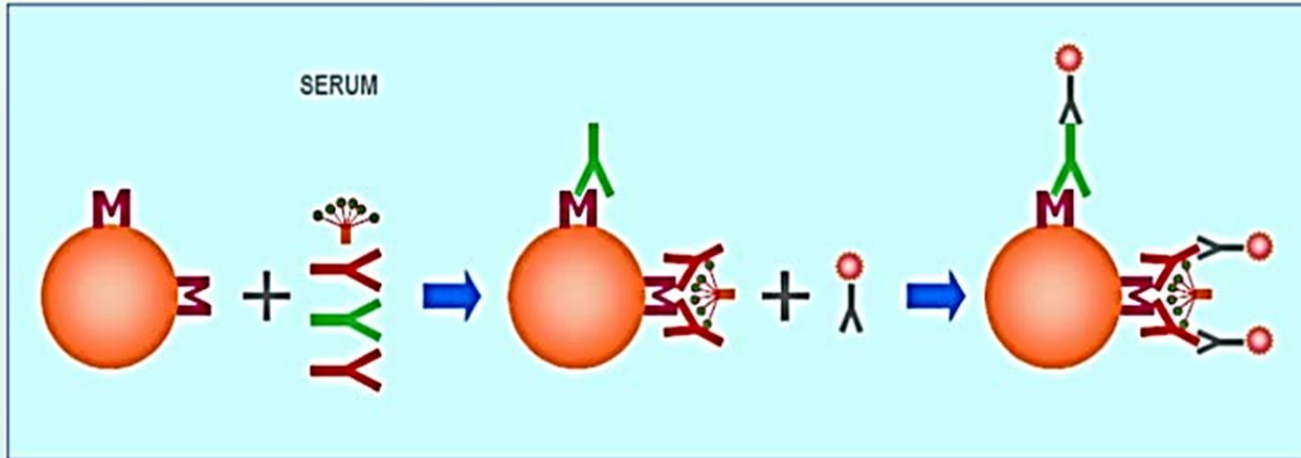
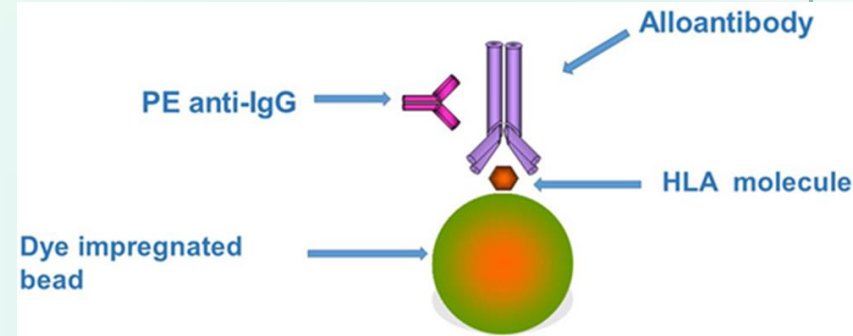


SINGLE ANTIGEN



Metodología

- Los anticuerpos anti-HLA (suero) se unen a los antígenos en las perlas.
- Se marcan con anti-IgG humana conjugada con ficoeritrina (PE).

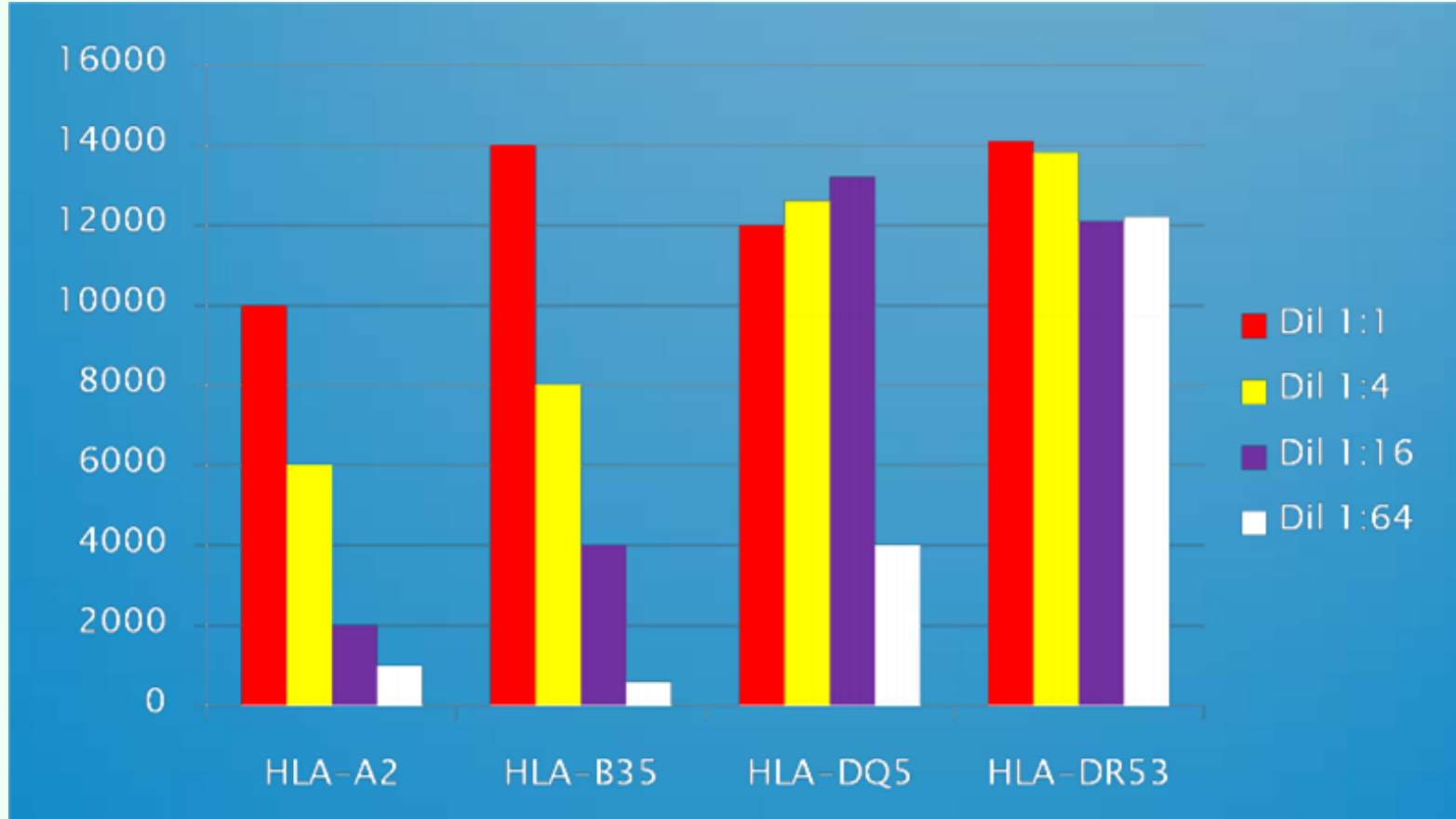


Correlacionando MFI y los resultados del Cross Match:

Luminex (MFI)		Cross Match	
		CDC	Citometría de Flujo
Negativo	<1000	Negativo	Negativo
Débil	1000 – 2000	Negativo	Negativo
Moderado	2000 – 8000	Negativo/Positivo(c/AHG)	Positivo/Negativo
Elevado	>8000	Positivo	Positivo

MFI ≠ Título

Titular anticuerpos anti-HLA





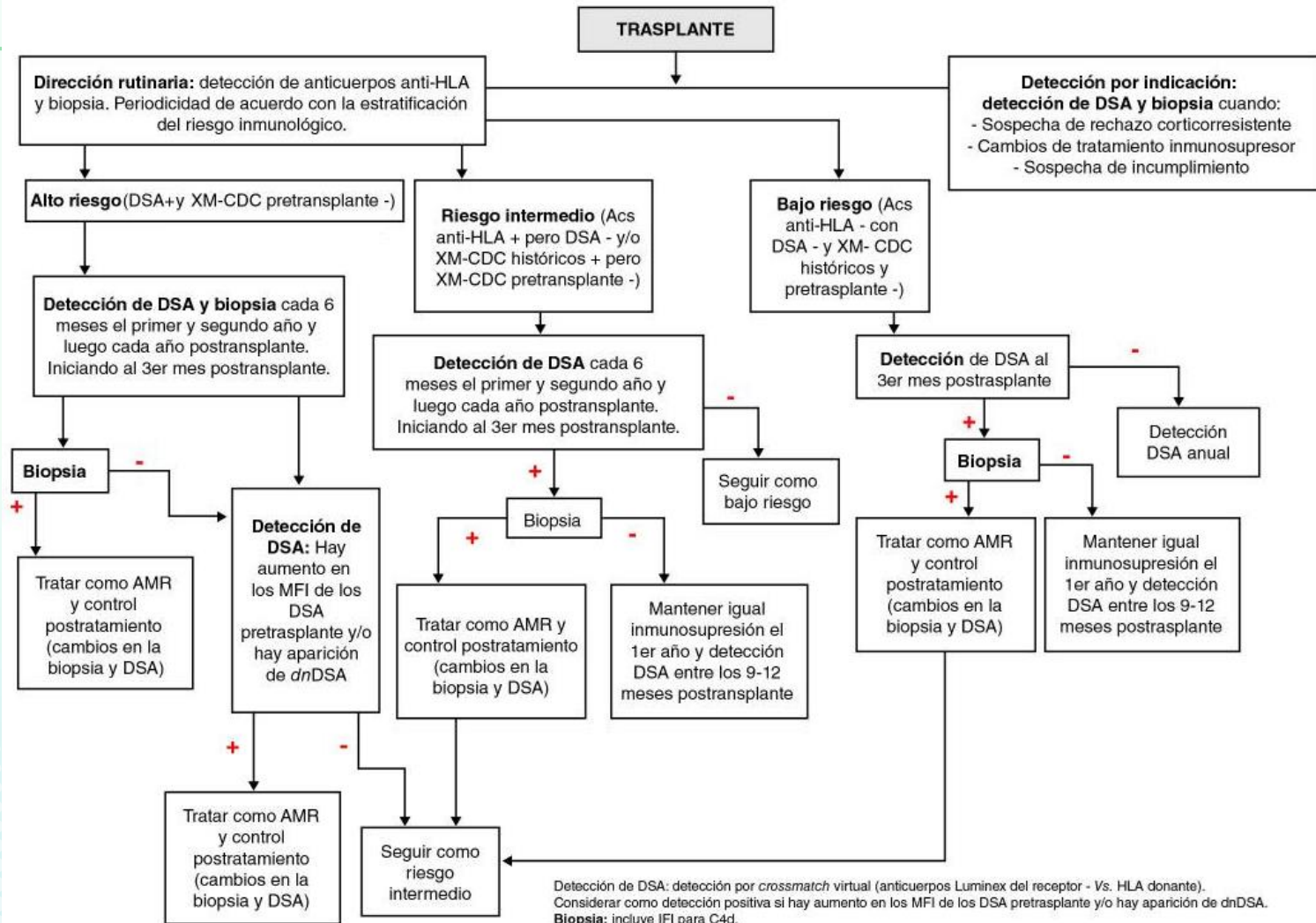
Single Antigen

•Ventaja:

- Alta especificidad y sensibilidad.
- Se procesa hasta 48 muestras en simultaneo.
- Se puede determinar el título de anticuerpos. (diluciones)
- Permite realizar el **Cross Match Virtual**.

•Desventaja:

- Alto costo.
- Anticuerpos Recombinantes.





03 Rechazo inmunológico

El rechazo es una de las principales complicaciones y es inevitable sin una terapia inmunosupresora adecuada

Según la velocidad con la que aparecen los signos del rechazo, estos se clasifican en hiperagudos, agudos y crónicos.

Hiperagudo

Puede manifestarse unos pocos minutos después del trasplante hasta una semana posterior.
Siempre su causa es humoral.

Agudo

Inicia dentro de los primeros meses post trasplante. Puede ser humoral o celular

Crónico

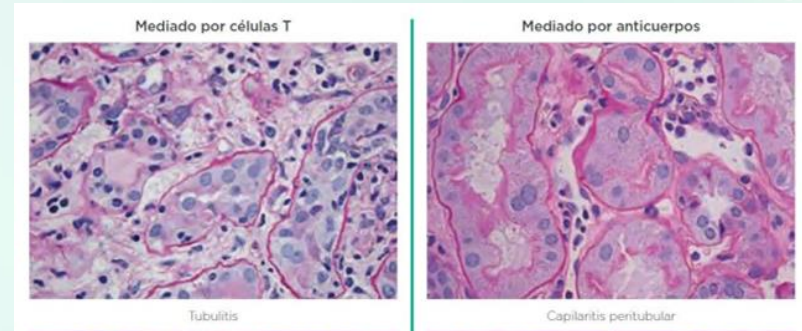
Puede aparecer meses o años después del trasplante, y contribuye a la pérdida paulatina de la función del órgano. Puede ser humoral o celular

Factores determinantes de rechazo

- Grado de sensibilización al HLA (PRA y DSA)
- Grado de incompatibilidad HLA
- Antecedentes de episodios anteriores de rechazo
- Trasplantes previos
- Incumplimiento del tratamiento inmunosupresor
- Algunas infecciones por virus, ej CMV

Diagnóstico

- Criterios histopatológicos evidenciados por biopsia



+ DSA (Ac anti HLA donante específicos)

Muchas gracias!

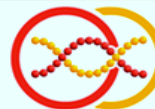


Trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas

Laboratorio de Histocompatibilidad del INCAIMEN – Hospital Central
Floencia Dutto Bioquímica Esp. Bioquímica Clínica



ASOCIACIÓN
BIOQUÍMICA DE MENDOZA



LABORATORIO DE
HISTOCOMPATIBILIDAD
INCAIMEN



Tabla de contenidos

- 01** Definición y tipos de trasplantes
- 02** Importancia de la compatibilidad HLA
- 03** Laboratorio de histocompatibilidad en trasplante de CPH
- 04** Selección de donante

01 ¿Qué es el trasplante de CPH?

El trasplante de médula ósea es la infusión de células progenitoras con el objetivo de reestablecer la función medular e inmune en paciente con distintas enfermedad malignas o no malignas

TIPOS DE TRASPLANTES

1

Según el tipo de donante

AUTÓLOGO

Las CPH son del propio paciente, obtenidas antes de la quimio/ radioterapia

SINGÉNICO

Realizado con hermanos gemelos univitelinos

ALOGÉNICO

Distinto a un gemelo:

- *Donante relacionado histoiéntico

- *Donante relacionado haploidiéntico

- *Donante no relacionado, obtenido a partir de registros nacionales e internacionales

TIPOS DE TRASPLANTES

2

Según la fuente de CPH

MÉDULA ÓSEA

Por aspiración medular



SANGRE PERIFÉRICA

Por leucoféresis, post administración de factores de crecimiento hematopoyéticos

SANGRE DE CORDÓN

Tienen características de crecimiento que pueden producir una repoblación de células hematopoyéticas a largo plazo. Desventajas

Engrafment: recuento absoluto de neutrófilos $\geq 500/\mu\text{L}$ durante 2 días consecutivos

Composición:

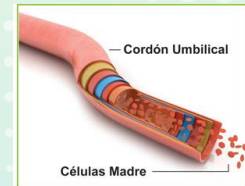
CD34+

Linfocitos

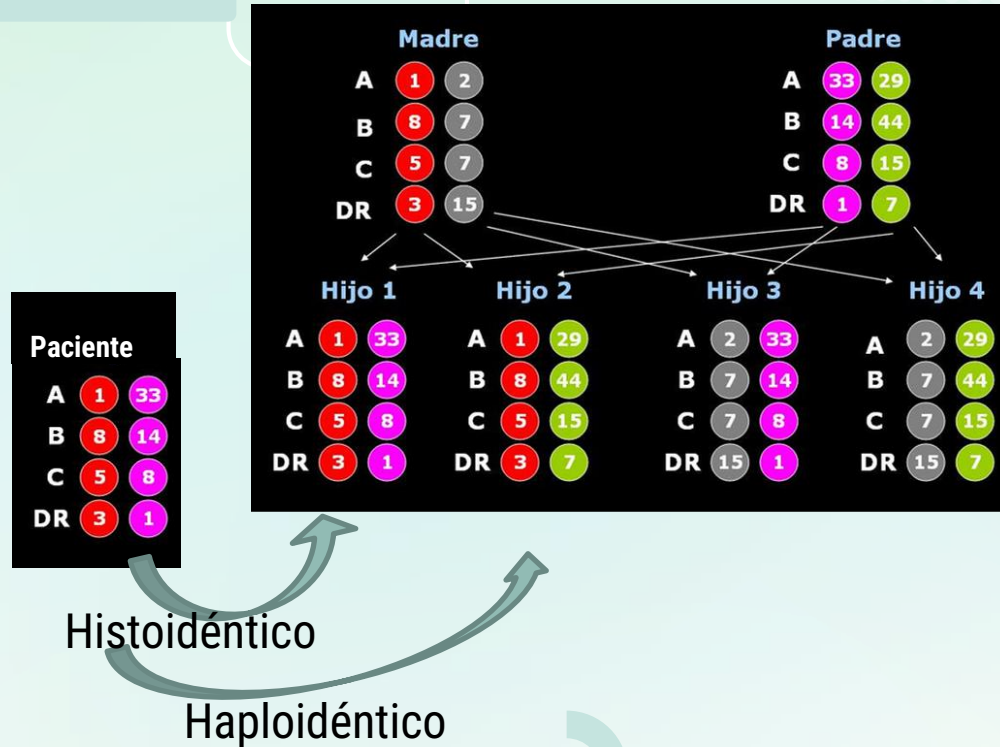
Precursores mieloides

Monocitos

Otras células



02 Compatibilidad HLA



La compatibilidad HLA es el **factor más importante** para elegir al donante

El mejor donante es un hermano **histoidéntico**



Opción posible en 1/3 de los pacientes

Polimorfismo



Hay muchas variaciones dentro de su secuencia genética, y cada variante es llamada **alelo**.

La mayoría de las variaciones en los alelos son **no sinónimas**, y las variaciones de los aminoácidos impacta en el DPB, lo que influye directamente en como los péptidos propios y no propios son presentados a los LT

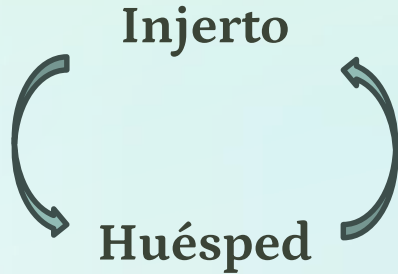
<u>A*01:01:01</u>	<u>A*02:16</u>	<u>A*03:04:01</u>	<u>A*2412</u>
<u>A*01:02:01</u>	<u>A*02:17:01</u>	<u>A*11:01:01</u>	<u>A*24:13:01</u>
<u>A*01:03:01</u>	<u>A*02:17:02</u>	<u>A*11:02:01</u>	<u>A*24:14:01:01</u>
<u>A*01:04:01</u>	<u>A*02:18</u>	<u>A*11:03:01</u>	<u>A*24:15</u>
<u>A*02:01:01</u>	<u>A*02:19</u>	<u>A*11:04</u>	<u>A*31:08</u>
<u>A*02:01:02</u>	<u>A*02:20:01</u>	<u>A*11:05</u>	<u>A*24:17:01:01</u>
<u>A*02:02:01</u>	<u>A*02:21</u>	<u>A*23:01:01</u>	<u>A*24:18</u>
<u>A*02:03:01</u>	<u>A*02:22:01</u>	<u>A*2401</u>	<u>A*24:19</u>

HLA Class I				1
Gene	A	B	C	1
Alleles	7,644	9,097	7,609	
Proteins	4,450	5,471	4,218	1
Nulls	397	318	330	

Importancia de la compatibilidad HLA

Rechazo

Las células aloreactivas del paciente pueden iniciar una **respuesta inmune** contra los antígenos no propios expresados en las células del donante, causando el rechazo del **Huésped contra Injerto**



Además, las células del donante pueden reconocer los antígenos expresados en los tejidos del paciente como no propios causando el rechazo del **Injerto contra Huésped**

El impacto de que el donante sea **histoidéntico**, contribuye significativamente con una **mejor evolución**, reduciendo las alo-reacciones que contribuyen a los rechazos HVG y GVH



Enfermedad Injerto vs Huesped

Es la **principal causa de morbilidad** relacionada al trasplante alogénico.

Es una enfermedad sistémica que compromete la piel, mucosa GI, ductos biliares y hepatocitos. En menor medida también ojos, MO, pulmones y riñones

Es producida por una respuesta inmune de las células T del donante
contra los antígenos HLA del receptor

Efecto Injerto vs Leucemia

Las células T del donante, y posiblemente otras cél. inmunitarias, eliminan las cél. leucémicas residuales después de la radio/quimioterapia previa.

Esta es la misma respuesta aloinmune que puede dirigirse contra tejidos sanos (EICH). Ambas a menudo coexisten, pero no siempre ocurren juntas



03

Laboratorio de histocompatibilidad en trasplante de CPH

Tipificación del HLA

Donante relacionado

PACIENTE



Locus A, B, C, DRB1, DQB1 y DPB1

PCR-SSO (Luminex)
Secuenciación

**Potenciales
donantes**

Según equipo de
trasplante



Locus A, B, DRB1



Ampliar los loci restantes



Locus A, B, C, DRB1, DQB1 y DPB1

PCR-SSO (Luminex)

Resolución INCUCAI 2023

NORMATIVA para la realización de Estudios de Histocompatibilidad en pacientes y donantes para trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) con donante emparentado.

Análisis de segregación haplotípica

NORMATIVA para la realización de Estudios de Histocompatibilidad en pacientes y donantes para trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) con donante emparentado.

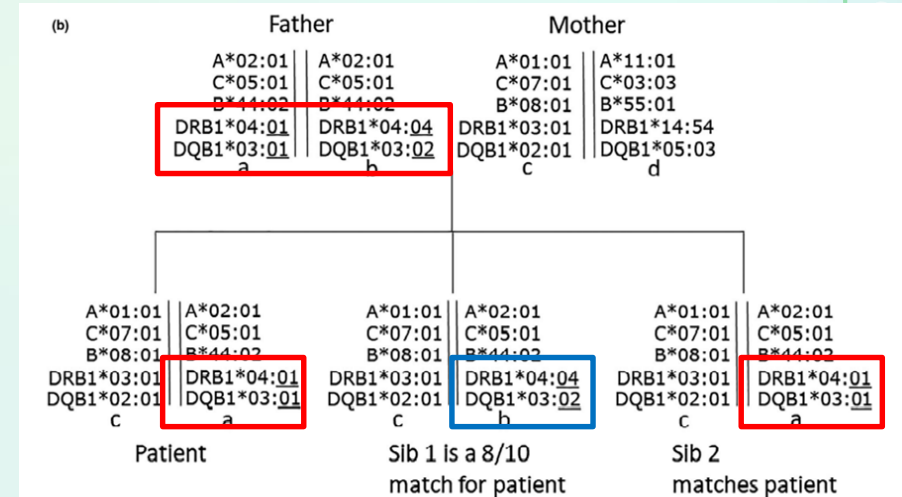
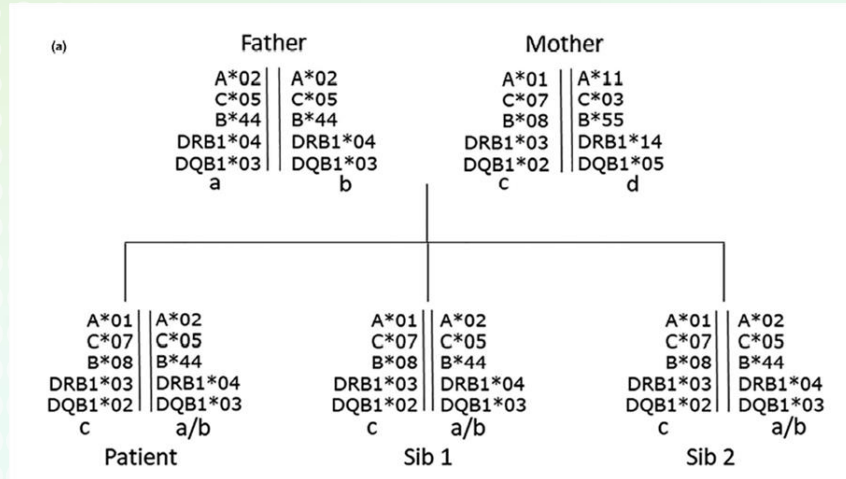
Sólo se puede asegurar la identidad genotípica si se observa claramente la segregación de los 2 haplotipos paternos y los 2 haplotipos maternos



Análisis de segregación haplotípica

Resolución INCUCAI 2023

NORMATIVA para la realización de Estudios de Histocompatibilidad en pacientes y donantes para trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) con donante emparentado.



Ante la presencia de una posible homocigosis de algún haplotipo progenitor, que no permita identificar que donante y paciente hayan heredado los mismos haplotipos, se debe realizar la tipificación en alta resolución de paciente y donante seleccionado.

Anticuerpos anti HLA

Búsqueda de Anticuerpos Donante Específicos

Resolución INCUCAI 2023

NORMATIVA para la realización de Estudios de Histocompatibilidad en pacientes y donantes para trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) con donante emparentado.

Aumento de n° de donantes, incorporando haploidénticos y Mismatch permisivos

Aparece un nuevo problema



DSA



Impiden el *engraftment* y lleva a falla del injerto

Se debe realizar el ensayo de especificidad de anticuerpos por fase sólida

SAB

Solo si el donante NO es histoidéntico

Anticuerpo HLA específico del donante en el trasplante de células madre hematopoyéticas: implicaciones para la selección de donantes

Tipificación del HLA

Resolución INCUCAI 2023

NORMATIVA para la realización de Estudios de Histocompatibilidad en pacientes y donantes para trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) con donante emparentado.

Donante NO relacionado

PACIENTE



Locus A, B, C, DRB1, DQB1 y DPB1

Secuenciación

**Potenciales
donantes**



Locus A, B, C, DRB1, DQB1 y DPB1

Secuenciación

Búsqueda de anticuerpos DSA

Tipificación verificatoria

Es mandatorio tipificar PACIENTE y DONANTE
seleccionado desde una **nueva muestra**, como
mínimo en locus A, B y DRB1





04 Selección de donante

Búsqueda inicial



DONANTE RELACIONADO



- *Más rápido de identificar
- *Más barato
- *Más flexibilidad en términos de tiempo de trasplante



Puede NO ser apropiado en ciertas enfermedades genéticas, en caso de que porten la misma mutación

Hay un 30% de que el paciente y un hermano sea **histoidéntico**

Haploidéntico

Familiar de primer grado que comparte un haplotipo completo con el paciente $\geq 5/10$



Ciclofosfamida

DONANTE NO RELACIONADO



Cuando NO tiene ningún donante relacionado compatible



El **tiempo** es una consideración **IMPORTANTE**. Si es una **urgencia**, la búsqueda se inicia al mismo tiempo que donantes relacionados

Primero se hacen búsquedas **nacionales**, y según la cantidad de posibles donantes, se hacen búsquedas **internacionales**

Lo ideal es que el paciente esté tipificado por **alta resolución**

UCB

Cuando no hay disponible un DR ni un DNR compatible, puede considerarse UCB

Debido a la inmadurez de las UCB, la compatibilidad HLA es menos rigurosa cuando se usa este injerto.

UCB debe ser compatible al menos **4/6 (A, B y DRB1)** siendo A y B de **baja/mediana resolución**, y DRB1 de **alta resolución**.

Para cerrar el ciclo de charlas...

Trasplante de órganos sólidos

- Los **pacientes** que necesitan un riñón se inscriben en una lista de espera
- Es frecuente el rechazo del **huésped al injerto** ya sea celular o humoral
- La compatibilidad HLA es importante pero no es necesario que sea histoidéntico
- Resolución del HLA baja/mediana

Trasplante de CPH

- Los **donantes** se anotan en registros nacionales e internacionales
- Es más frecuente el rechazo del **injerto vs huésped**
- Históricamente han sido histoidénticos, ahora se están haciendo haploidénticos o con 1 MM
- Resolución del HLA mediana o alta

Muchas gracias!



Bibliografía

- TRASPLANTE DE ORGANOS SOLIDOS VASCULARIZADOS Eduardo Chuluyan, Diego Guerrieri, Nella Ambrosi, Valeria Mas, Domingo Casadei y Claudio Incardona
- Argentina.Gob.ar
- NORMATIVA para la realización de Estudios de Histocompatibilidad en pacientes y donantes para trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) con donante no emparentado.
- NORMATIVA para la realización de Estudios de Histocompatibilidad en pacientes y donantes para trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) con donante emparentado.
- TRASPLANTE DE ORGANOS SOLIDOS VASCULARIZADOS Eduardo Chuluyan, Diego Guerrieri, Nella Ambrosi, Valeria Mas, Domingo Casadei y Claudio Incardona
- Argentina.Gob.ar
- The Graft-Versus-Leukemia Effect in AML Connor Sweeney and Paresh Vyas, 2019
- Enfermedad injerto versus huésped María Juliana Villafañe,1 Luis Hernando Moreno chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://sisbib.unmsm.edu.pe/bVrevistas/dermatologia/v22_n4/pdf/a04v22n4.pdf