

IV. Importancia del CMH en el trasplante de Células Progenitoras Hematopoyéticas de Cordón Umbilical y seguimiento del injerto

Julio César Martínez-Álvarez*

La respuesta alogénica es estimulada por diferencias tanto del donador como del receptor en sus antígenos mayores y menores, esto está mediado por antígenos leucocitarios humanos (HLA) ubicados en el Complejo Principal de Histocompatibilidad (CPH, o MHC, por sus siglas en inglés). Los antígenos clase I y II son la barrera inmunológica más importante para la realización de trasplantes de Médula Ósea y Células Progenitoras Hematopoyéticas de Cordón Umbilical. La función fisiológica de las moléculas HLA es la de procesamiento y presentación de péptidos antigenicos a los linfocitos T citotóxicos y cooperadores. El primer trasplante de sangre de cordón umbilical (SCU) se llevó a cabo en 1988, en un paciente afectado por anemia de Fanconi. El uso de SCU como fuente de precursores hematopoyéticos para el rescate de terapias intensivas se ha impuesto en los últimos años, sobre todo a nivel pediátrico.¹⁻³

El Sistema HLA

El sistema HLA está constituido por 224 genes aproximadamente, genes y pseudogenes, localizados en el brazo corto del cromosoma 6 dentro de la banda 6p21.3, que representa casi 2.5% de la longitud total del cromosoma 6 donde abarca alrededor de 4 megabases. Los genes HLA se encuentran distribuidos en 3 regiones, clase II (centromérica), clase III y clase I (telomérica).⁴⁻⁶

Región clase I

Constituido por tres genes clásicos (HLA-A, HLA-B y HLA-C), tres no clásicos (HLA-E, HLA-F y HLA-G), dos genes relacionados a cadenas MHC clase I (MIC) MICA y MICB, y 15 pseudogenes.

Figura 1. Estudio serológico vs estudio molecular.

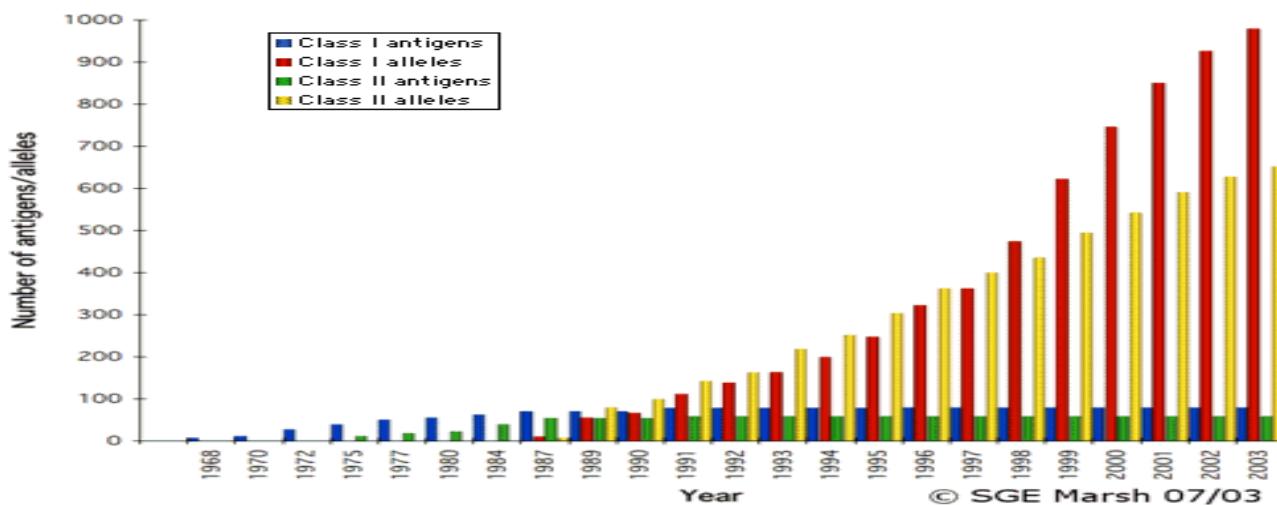


Figura 1. La gráfica indica el número de antígenos y alelos nombrados y estudiados desde el primer Comité de Nomenclatura en 1968 hasta finales de junio de 2003.

* Encargado del Servicio de Histocompatibilidad y HLA del Banco Central de Sangre. Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. México, D.F.

Región clase II

La región clase II posee al menos 23 genes, codifica los antígenos HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP, los transportadores de péptidos (TAP1 y TAP2) y los proteasomas (LMP2 y LMP7).

Región clase III

Constituido por genes codifican para gran variedad de proteínas importantes en la inmunidad, como son los componentes del complemento (C2, C4A, C4B y Bf), los factores de necrosis tumoral (TNF α y TNF β) las proteínas de choque térmico (HSP-70 y GP) y la enzima 21-hidroxilasa.⁷

Polimorfismo

El MHC es el sistema más polimórfico que existe. Hasta junio de 2002 se habían descrito 1531 alelos, sin embargo esta cifra ha variado considerablemente, siendo hasta marzo de 2004 un total de 1814 alelos estudiados y esto se ha logrado con el desarrollo de las técnicas moleculares (Figura 1).^{8,9}

Alorreconocimiento

Los tejido u órganos transplantados son rechazados si provienen de un donador que expresa moléculas MHC diferentes a las del receptor. Los injertos pueden ser rechazados aun cuando las moléculas del MHC difieran en un solo aminoácido. Esta rápida y muy potente respuesta inmune celular, resulta de la presencia de un gran número de células T en cualquier individuo que son reactivas a moléculas alogénicas del MHC. Otras células T alorreactivas responden mediante la unión directa del TCR propio a distintas presentaciones de la molécula MHC no propia. El TCR se une a moléculas MHC no propias generando una fuerte señal, debido a la alta concentración de moléculas MHC no propias sobre la superficie de la célula presentadora. Ambos mecanismos contribuyen a la alta frecuencia de las células T que responden a moléculas MHC no propias sobre el tejido transplantado, lo cual refleja claramente la función del linfocito T en el reconocimiento de las moléculas MHC en general.^{10,11}

Seguimiento del injerto (pruebas de quimerismo).¹²

El propósito del seguimiento del injerto es identificar y cuantificar la población de células del donador presente en un paciente después del trasplante de médula ósea es

decir el grado de quimerismo. El quimerismo es un estado inmunogenético caracterizado por la supervivencia y colaboración de poblaciones celulares originadas de dos individuos diferentes.

Tipos de quimerismo:

- Quimera completa: todas las células hematopoyéticas y linfoides son derivadas del donador después del TMO.
- Quimera parcial, incompleta o mezclada: las células hematopoyéticas y/o linfoides del receptor persisten junto con las del donador después del TMO (2.5 – 97.5% de las células del Donador o del Receptor).
- Microquimerismo: < 2.5 % de las células son del Donador o del Receptor.

Para la determinación del grado de quimerismo es necesario el estudio de los microsatélites, que son secuencias de nucleótidos que se encuentran repetidas a lo largo de todo el genoma. Dependiendo del tamaño de repeticiones se clasifican en Microsatélites (STRs) 2 a 7 nucleótidos y Minisatélites (LTRs) 8 a 70 nucleótidos.

Estudios realizados en el laboratorio de Histocompatibilidad y HLA del BCS del CMN SXXI

A partir de enero de 2003, se ha realizado la tipificación del HLA de CCU y el estudio de histocompatibilidad de pacientes hematológicos para Trasplante de Médula Ósea, en el BCS del CMN SXXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Es así, como se han obtenido 752 muestras de DNA de un total de 295 muestras: 123 muestras de CCU, 123 muestras de sangre materna, 22 muestras para protocolos de investigación de asociación de enfermedad-HLA y 27 muestras de pacientes y donadores relacionados para trasplante de médula ósea. Del total de muestras de DNA obtenido, se han tipificado por métodos moleculares un total de 99 cordones en baja y mediana resolución (SSP ABDRDQ Pel-FreezÒ), se han realizados 21 estudios moleculares de mediana y alta resolución a pacientes candidatos a trasplante de médula ósea y se han realizado 19 estudios serológicos, como método de filtro antes de realizar el método molecular y obtener el donador compatible (Figura 2).

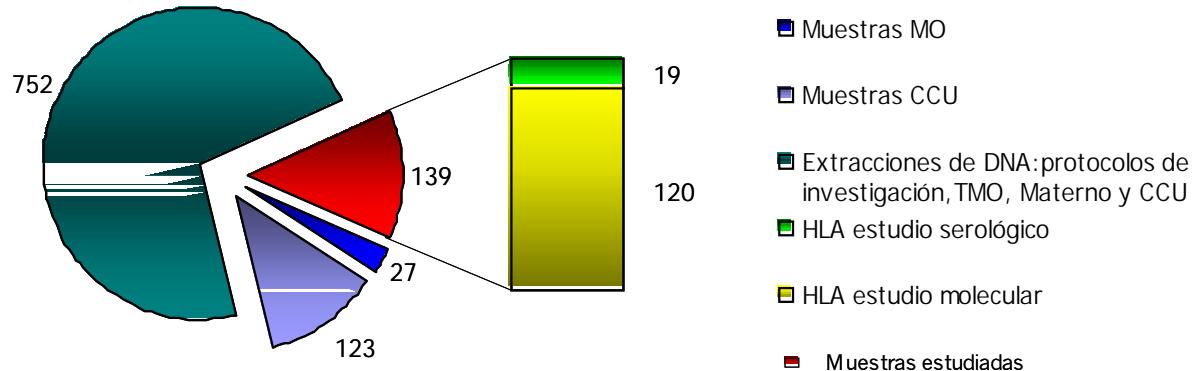
Frecuencias encontradas

Las frecuencias encontradas son similares a las reportadas en estudios realizados en población mestiza mexicana del Valle de México.

De los 99 cordones estudiados se han encontrado las siguientes frecuencias, (Cuadro I):



Total de estudios realizados en el BCS, CMN SXXI



E. B. C. Jub César Martínez Ávarez
BCS CMNSXXI

Figura 2. Estudios realizados de enero del 2003 a julio del 2004.

Cuadro I.

HLA* Locus A	% F	HLA* Locus B	% F	HLA* Locus DRB1	% F	HLA* Locus DQB1	% F
A1	6.25	B7	2.25	DR1	3.76	DQ2	6.45
A2	32.95	B8	3.39	DR3	2.69	DQ3	58.60
A3	6.25	B13	0.56	DR4	27.42	DQ4	18.28
A11	2.84	B14	2.81	DR7	4.84	DQ5	6.99
A23	2.27	B15	10.11	DR8	19.35	DQ6	9.68
A24	18.18	B18	2.25	DR9	1.08		
A25	0.57	B27	1.69	DR10	1.08		
A26	1.14	B35	15.17	DR11	4.84		
A29	2.27	B37	1.12	DR13	6.99		
A30	0.57	B38	0.56	DR14	17.74		
A31	9.09	B39	16.29	DR15	5.91		
A32	0.57	B40	11.24	DR16	4.30		
A33	1.14	B42	0.56				
A36	1.14	B44	1.69				
A66	0.57	B45	0.56				
A68	14.20	B48	11.24				
		B49	2.25				
		B50	1.12				
		B51	4.49				
		B52	2.81				
		B53	2.25				
		B55	1.69				
		B56	0.56				
		B78	2.25				
		B83	0.56				

* Estudios realizados por SSP (Pel-FreezÒ) a baja y mediana resolución.

% F= Frecuencia reportada en por ciento.

Referencias

1. **Smith W, Williams S, Van-Epps DE, et al.** Phenotypic analysis and characterization of CD34+ cells from normal human bone marrow, cord blood, peripheal blood, and mobilized peripheal blood from patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Clinical Immunopathology* 1994; 70:10-18.
2. **Germain RN.** The ins and outs of antigen processing and presentation. *Nature* 1986; 322:687-689.
3. **Schmutz N et al.** Allogenic and autologous transplantation for hematological diseases, solid tumours and immune disorders: Current practice in Europe in 1996 and proposals for an operational classification. Accreditation Sub-committee of the European Group for Blood and Marrow Trasnplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 1996; 17:471-477.
4. **Botstein D.** Of genes and genomes. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 882:32-35.
5. **Beck S.** Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. The MHC sequencing consortium. *Nature* 1999; 401:921-925.
6. **Campbell RD & Trowsdale J.** Map of the human MHC. *Immunol Today* 1993; 14:349-351.
7. **Koller BH, et al.** Organization of the human class I major histocompatibility complex genes. *Immunol Res* 1987; 6:1-5.
8. **Steven GE, Marsh Ekkehard DA, et al.** Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. *Tissue Antigens* 2002; 60:407-464.
9. HLA Informatics Group, Anthony Nolan Research Institute. (<http://www.anthonynolan.org/HIG/>).
10. **Fleischhauer K, et al.** Bone marrow-allograft rejection by lymphocytes recognizing a single amino acid difference in HLA-B44. *N Engl J Med* 1990; 323:1818-1823.
11. **Lechler RI et al.** The molecular basis of alloreactivity. *Immunol Today* 1990; 11:83-86.
12. **Lawler M, Cayuela JM.** Minimal Residual Disease Detection. En: The EBMT Handbook Blood and Marrow Transplantation. Apperley JF, Gluckman E, Gratwohl A (Eds.) European School of Haematology. Edición Revisada en el 2000. París, Francia, 2000, pp. 216-229.