

Julio César
Martínez-Álvarez,¹
Araceli
Arazola-García²

¹Especialista en
Bioquímica Clínica
²Química Farmacéutica
Bióloga

Banco Central de Sangre,
Centro Médico Nacional
Siglo XXI, Instituto
Mexicano del Seguro
Social.

Comunicación con:
Julio César
Martínez-Álvarez
Tel.: 5627 6900,
extensión: 21727
Dirección electrónica:
juliocesar_ma@yahoo.
com.mx

Importancia de la tipificación HLA en alta resolución para trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

RESUMEN

La histocompatibilidad la determinan principalmente los genes del MHC (Major Histocompatibility Complex - Complejo Principal de Histocompatibilidad), conocido como sistema HLA (Human Leucocyte Antigen - Antígenos Leucocitarios Humanos) en el humano y se localizan en un segmento de 4 megabases del brazo corto del cromosoma 6. La respuesta inmune contra antígenos HLA representa la principal barrera al trasplante de órganos y de células progenitoras hematopoyéticas (CPH). En la actualidad, los principales centros de trasplante, así como los Bancos de Células de Cordón seleccionan las unidades de sangre de cordón umbilical para un paciente basado en la tipificación de baja resolución de HLA-A, -B y de alta resolución para HLA-DRB1. En contraste a los trasplantes de médula ósea donde HLA clase I (A, B, C) y clase II (DRB1 y DQB1) se determinan en alta resolución para la selección del donador a fin de minimizar el riesgo de los dos obstáculos principales, EICH y rechazo del injerto para un trasplante exitoso de CPH no relacionadas.

SUMMARY

Histocompatibility is mainly determined by MHC genes, HLA in man which is located in the short arm of chromosome 6. The immune response against HLA antigens is the major obstacle to organ and hematopoietic stem cells transplantation. Actually, the most important transplantation centers and the cord blood banks select the units of cord blood searching HLA antigen matches typed low to medium resolution level for HLA-A and -B and high resolution level for HLA-DRB1. In contrast, bone marrow transplantation HLA class I -A, -B, and -C and HLA class II -DRB1 and -DQB1 are typed in high resolution level to select the donor to prevent GvHD and graft rejection and obtain an outcome transplant.

La histocompatibilidad la determinan principalmente los genes del MHC (Major Histocompatibility Complex - Complejo Principal de Histocompatibilidad), conocido como sistema HLA (Human Leucocyte Antigen - Antígenos Leucocitarios Humanos) en el humano y se localizan en un segmento de 4 megabases del brazo corto del cromosoma 6.^{1,2} La región HLA comprende 6 principa-

les loci que codifican para proteínas estructuralmente homólogas que son clasificadas en antígenos HLA clase I (HLA-A, -B y Cw) y clase II (HLA-DR, -DQ y -DP), de acuerdo a la función, distribución tisular y características en la presentación de péptidos a las células T.¹⁻³

Los antígenos HLA son glicoproteínas de la superficie celular que se caracterizan por un

Palabras clave:

- ✓ el complejo principal de histocompatibilidad
- ✓ paridad
- ✓ polimorfismo

Key words:

- ✓ the major histocompatibility complex
- ✓ match
- ✓ polymorphism

alto grado de polimorfismo alélico dentro de las poblaciones humanas.^{4,6}

La función biológica de las moléculas HLA es presentar péptidos derivados de patógenos a los linfocitos T citotóxicos CD8⁺ y linfocitos T cooperadores CD4⁺,^{1,2,7} a este proceso se le conoce como presentación antigénica –dependiente del MHC. Los complejos péptido-HLA son reconocidos por receptores de células T distribuidos en clonas.

Los receptores de células T (TCR's, T-Cell Receptor) son capaces también de reconocer moléculas HLA alogénicas, de tal forma que 1 a 10 % de los linfocitos de sangre periférica de un donador puede responder a un aloantígeno.^{8,9}

La respuesta inmune contra antígenos HLA representa la principal barrera al trasplante de órganos y de células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Estas respuestas pueden ser extremas como en el caso de EICH (Enfermedad Injerto Contra Hospedero) mediada por linfocitos T-citotóxicos alorreactivos después de un trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas, o en el caso de un rechazo agudo mediado por anticuerpos específicos anti-HLA preformados después de un trasplante de órgano.

La correcta y exacta tipificación HLA y el criterio de compatibilidad son los principales factores para el éxito de un trasplante.

A principios de 1980 la clonación molecular de los genes de clase I y II permitió el entendimiento de las bases moleculares de la diversidad del sistema HLA y para el desarrollo de técnicas de tipificación basadas en el ADN.⁵

El MHC ha permanecido a través de la evolución, existe en todos los mamíferos, es el sistema más polimórfico en el humano, siendo ésta su principal característica. Cada molécula del MHC se une sólo con un péptido en el “nicho” peptídico, formado por dos dominios, $\alpha 1$, $\alpha 2$ y la cadena β plegada, y sólo permite un péptido de 9 a 11 aminoácidos en los de clase I y de 10 a 30 aminoácidos en los de clase II. Esta zona de unión es la que presenta el mayor polimorfismo determinado por la especificidad y la afinidad de la unión del antígeno y del reconocimiento de la célula T.¹⁰

El gran polimorfismo en la región HLA proporciona cierta resistencia a las infecciones,

los genes del MHC están asociados con la mayoría, si no es que con todas las condiciones autoinmunes comunes y esto está dado por el fuerte desequilibrio de enlace en esta región. La causa de enfermedades autoinmunes es desconocida. Lo que sí está bien establecido es que existe una estrecha relación entre factores ambientales y genéticos.^{11,12}

La tipificación en alta resolución de HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ, en el trasplante de CPH

El trasplante de células de cordón umbilical (CCU) es una opción terapéutica en pacientes pediátricos con trastornos hematológicos, una de las ventajas es su bajo riesgo para desarrollar EICH severo y cierta disparidad HLA entre las CCU y el receptor; sin embargo, en adultos el éxito del injerto está condicionado a la dosis celular de CD34⁺, por lo cual es necesario realizar el trasplante utilizando dos unidades de CCU que cumplan con la dosis celular. Una alta dosis de células CD34⁺ está asociada a una mejor sobrevida, dosis de CD34⁺ menores a 1.8×10^7 por kg de peso o menor a 1.7×10^5 CD34⁺ células/kg de peso del receptor, tiene un marcado decremento en el éxito del injerto y la sobrevida del receptor, aunado a esto, hay que tomar en cuenta la tipificación HLA en baja, mediana y alta resolución.¹³

En la actualidad los principales centros de trasplante, así como los Bancos de Células de Cordón seleccionan las unidades de sangre de cordón umbilical (SCU) para un paciente basado en la tipificación de baja resolución de HLA-A, -B y de alta resolución para HLA-DRB1. En contraste con los trasplantes de médula ósea donde HLA clase I (A, B, C) y clase II (DRB1 y DQB1) se determinan en alta resolución para la selección del donador a fin de minimizar el riesgo de los dos obstáculos principales, EICH y rechazo del injerto para un trasplante exitoso de CPH no relacionadas.

En un estudio realizado en 122 trasplantes de Sangre de Cordón Umbilical no relacionado (Kögler G, Enczmann J, Rocha V) se llevaron a cabo con 1 a 3 disparidades en HLA tipificadas en baja resolución en HLA-A y -B y para HLA-DRB1 en alta resolución, a pesar

de estas grandes disparidades en HLA, los trasplantes en CCU fueron asociados con una baja incidencia en EICH agudo y crónico, probablemente debido a la inmadurez de las células T del donador, el bajo número de células T infundidas, una población de células dendríticas selectiva y una alorreactividad disminuida con una reducción concomitante en la respuesta a citocinas incluyendo TNF (Factor de Necrosis Tumoral) e IFN γ (Interferón Gamma). También se ha sugerido que influye la madurez de las células de la SCU dentro de las células que producen IL10 (Interleucina 10), las cuales ayudan a la inducción de la tolerancia en el trasplante. Como se ha reportado en la literatura la dosis de células nucleadas de SCU por kg de peso es el parámetro más crítico para el éxito del injerto y la sobrevivencia después de un trasplante de CCU. Además de la dosis de células, las disparidades en HLA también han mostrado una influencia adversa a la sobrevivencia después de un trasplante de CCU, la influencia en el injerto y resulta en un EICH agudo grado III a IV, si existen disparidades en HLA Clase I y II.¹⁴

Diferentes grupos de estudio, tales como el grupo japonés (Japanese Marrow Donor Program) y el grupo de Seattle, han demostrado la importancia de la tipificación para los alelos de HLA de alta resolución en SCU y ambos han señalado que el nivel de compatibilidad o paridad (match) HLA es importante para minimizar el EICH agudo. Así mismo, los resultados exhiben los distintos riesgos para los 5 diferentes loci. Los datos del grupo japonés al ser interpretados mostraron un riesgo significativo de EICH agudo al existir diferencia en los alelos HLA clase I HLA-A, -B o -C y no así para alelos HLA clase II HLA-DRB1 o -DQB1. Sin embargo, el efecto de la diferencia no fue significativo, se observó la tendencia de un mayor riesgo al existir disparidades (mismatch) (cuadro I).¹⁵

Conclusiones

El Laboratorio de Histocompatibilidad y HLA del Banco Central de Sangre del CMN Siglo XXI ha realizado 309 estudios de alta resolución de octubre de 2003 a mayo de 2006 para

CCU y CPH de donador relacionado (cuadro II y figura 1), y es así como nuestro grupo de trabajo sugiere realizar la tipificación HLA si-

Julio César Martínez-Álvarez et al.
HLA y trasplante

Cuadro I Definición de paridad (match). Receptor: A*2301			
Nivel de match	Donador		
Alta resolución a nivel de alelo	A*2301	}	Paridad alélica
	A*2302		
Molecular a baja resolución A nivel serológico (split)	A*23	}	Potencial paridad alélica
	A23(9)		
A nivel serológico (Ag) A nivel serológico (split-Ag) Mismatch serológico	A9	}	Disparidad a nivel de Ag
	A24(9)		
	A2		

Cuadro II Estudios realizados de octubre de 2003 a mayo de 2006. En el Laboratorio de Histocompatibilidad y HLA del Banco Central de Sangre del CMN Siglo XXI, IMSS.				
	Año			
	2003	2004	2005	2006
Extracción de DNA	141	633	1,457	1,113
Tipificación SSP	59	256	691	302
Tipificación SSO	0	0	82	670
Estudios de alta resolución SSP	0	21	277	11

* CCU: Células de cordón umbilical; DNA: Ácido desoxirribonucleico; SSP: Secuencia específica de iniciadores; SSO: Secuencia específica de oligonucleótidos

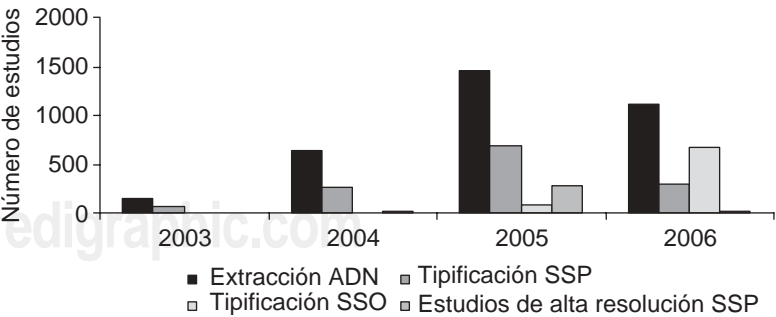


Figura 1. Estudios realizados de octubre de 2003 a mayo de 2006.

guiendo los estándares internacionales que recomiendan hacerlo por técnicas moleculares, llegando a una resolución baja/intermedia en clase I y alta resolución alélica en DRB1 (clase II). La selección del cordón se hace en base a: Locus- A, y -B a nivel de antígeno (normalmente se comparan los correspondientes splits), el locus -DRB1 a nivel de alelo (alta resolución). Se suman identidades y se acepta 4/6 con un mínimo de 3.5×10^7 CN/kg y 2.5×10^7 CN/kg, para 5/6 y 6/6. Si no se llega a esa dosis se pueden realizar trasplantes a partir de 2 unidades siempre que cada una de ellas tenga un mínimo de 1.5×10^7 CN/kg y entre las dos sumen 3.5×10^7 CN/kg (protocolo de la Universidad de Minnesota, Wagner J et al).¹⁶⁻¹⁸

Referencias

1. Klein J, Sato A. The system. First of two parts. *N Engl J Med* 2000;343:702-709.
2. Rhodes DA, Trowsdale J. Genetics and molecular genetics of the MHC. *Rev Immunogenet* 1999;1:21-31.
3. McCluskey J, Peh CA. The human leucocyte antigens and clinical medicine: an overview. *Rev Immunogenet* 1999;1:3-20.
4. Marsh SG, Bodmer JG, Albert ED, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. *Tissue Antigens* 2002;60:407-464.
5. Mach B. Genetics of histocompatibility. *Curr Opin Hematol* 1994;1:4-11.
6. Parham P, Ohta T. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. *Science* 1996;272:67-74.
7. Germain RN, Margulies DH. The biochemistry and cell biology of antigen processing and presentation. *Annu Rev Immunol* 1993;11:403-450.
8. Sherman LA, Chattopadhyay S. The molecular basis of allorecognition. *Annu Rev Immunol* 1993; 11:385-402.
9. Warrens AN, Lombardi G, Lechler RI. Presentation and recognition of major and minor histocompatibility antigens. *Transpl Immunol* 1994;2:103-107.
10. Martínez AJ. El papel del complejo principal de histocompatibilidad en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. *Rev Med IMSS* 2005;43 (Supl1):S87-S89.
11. Thorsby E, Benedicto A. HLA associated genetic predisposition to autoimmune diseases: Genes involved and possible mechanisms. *Transpl Immunol* 2005;14:175-182.
12. Trowsdale J. HLA genomics in the third millennium. *Curr Opin Hematol* 2005;17:498-504.
13. Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood* 2005;105:1343-1347.
14. Kögler G, Enczmann J, Rocha V. High-resolution HLA typing by sequencing for HLA-A,-B,-C,-DR,-DQ in 122 unrelated cord blood/patient pair transplants hardly improves long-term clinical outcome. *Bone Marrow Transplantation* 2005; 36:1033-1041.
15. Hansen JA, Yamamoto K, Petersdorf E, Sasazuki T. The role of HLA matching in hematopoietic cell transplantation. *Rev Immunogenetics* 1999;1:359-373.
16. International Symposium en Los Angeles Mayo 2006.
17. Gluckman E. Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: guidelines for donor choice. *Exp Hematol*. 2004;32(4):397-407.
18. Hurley D. Advances in HLA: practical implications for selecting adult donors and cord blood units. *Biol Blood marrow transplant*. 2006;12(Suppl 1):28-33. 