



El papel del sistema HLA en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Julio César Martínez Álvarez,* Araceli Arrazola García**

* Especialista en Bioquímica Clínica.

** Químico Farmacéutico Biólogo.

Laboratorio de Histocompatibilidad. Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional SXXI, IMSS.

Resumen

En este artículo describimos el impacto clínico del sistema de los antígenos leucocitarios humanos (HLA) en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), ya que las moléculas de este sistema proveen las bases moleculares del reconocimiento inmunológico. El trasplante de CPH representa una opción como terapia curativa de ciertas enfermedades hematológicas malignas, entre otras. Desafortunadamente, sólo el 25 al 30% de los pacientes tendrán un donador HLA-idéntico, por lo que existe la alternativa de considerar donadores no relacionados HLA-compatibles. La determinación HLA juega un importante papel en la selección de donadores de médula ósea en el trasplante. Recientemente se utilizan las técnicas que involucran el análisis del ácido desoxirribonucleico, tales como la reacción en cadena de la polimerasa utilizando Iniciadores de secuencia específica y con sondas de oligonucleótidos de secuencia específica, entre otras. Estas técnicas permiten proporcionar una correcta tipificación HLA.

Palabras clave: Complejo principal de histocompatibilidad, antígenos leucocitarios humanos, polimorfismo, trasplante.

Abstract

In this article, we describe the clinical impact of HLA system in hematopoietic stem cell transplantation, because HLA molecules provide molecular basis for immunologic response. Hematopoietic stem cell transplantation can provide curative therapy for patients with hematologic malignancies, marrow failure states, severe immunodeficiencies. Unfortunately, only 25 to 30% of patients will have a suitable HLA genotypically identical sibling donor available to facilitate transplant therapy thus they have to consider unrelated HLA-matching donors. Histocompatibility testing plays an important role in the selection of bone marrow donors for transplantation. Recently, the techniques involving DNA analysis are used, such as PCR-SSP and PCR-SSOP and others. This techniques give a correct assignment of HLA alleles.

Key words: The major histocompatibility complex, human, leukocyte antigen polymorphism, transplant.

Introducción

Un hombre muere a causa del rechazo a un trasplante de corazón; una mujer sufre de incapacidad por artritis reumatoide; un niño muere a causa de alguna inmunodeficiencia; otro niño muere a causa de alguna neoplasia o desorden hematopoyético. Estos cuatro escenarios clínicos tienen algo en común: la causa de todas ellas involucra de una u otra forma al sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA de *Human Leukocyte Antigen*), la versión humana del complejo principal de histocompatibilidad (MCH de *Major Histocompatibility Complex*). El mal funcionamiento del sistema HLA, el cual está involucrado en éstos y muchos otros desórdenes clínicos, es debido al papel del sistema en la respuesta adaptativa, pero también debido a su complejidad genética.¹

El sistema HLA

El sistema HLA se encuentra en el cromosoma 6, constituido por más de 200 genes, de los cuales más de 40 codifican para antígenos leucocitarios (Figura 1).²⁻⁴ El resto de los genes no está relacionado directamente al sistema HLA; no obstante, sí lo está a su funcionalidad. Este sistema se divide en tres regiones (Clase I, II y III); muchos de estos genes no están involucrados en la respuesta inmune. Los genes HLA involucrados en la respuesta inmune corresponden a la región I y II, los cuales son estructural y funcional-

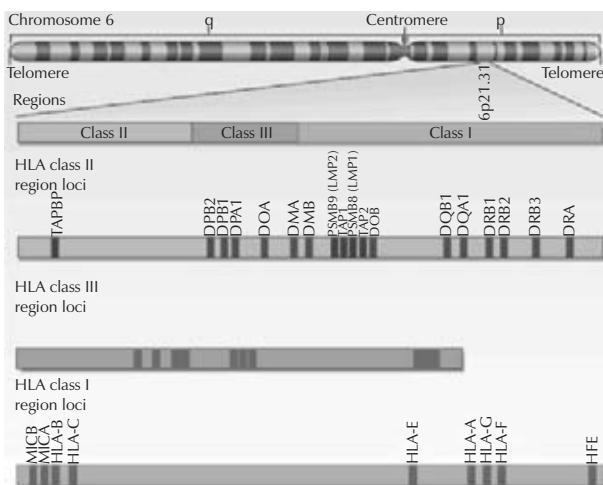


Figura 1. Localización del sistema HLA en el cromosoma 6.

mente diferentes. Los genes de Clase I están constituidos por dos cadenas polipeptídicas, una alfa o cadena pesada y la cadena beta, la beta 2-microglobulina (β_2m), es codificada en el cromosoma 15. La cadena alfa o pesada está constituida por cinco dominios: dos dominios de unión al péptido (α_1 y α_2), otro de estructura de la superfamilia de las inmunoglobulinas (α_3), la región transmembranal (α_4) y por último la citoplasmática (α_5) (Figura 2). De los 20 genes de Clase I, tres de ellos, HLA-A, B y C, también llamados genes clásicos, son los actores principales de despertar respuesta inmune.

Los genes de Clase II, codifican para las cadenas polipeptídicas α y β para las moléculas de Clase II. La nomenclatura de estas moléculas consiste en tres letras: la primera (D) indica la clase, la segunda (M, O, O, P, Q o R) la familia, y la tercera (A o B) la cadena (α y β , respectivamente). Cada una de las cadenas que constituyen las moléculas de Clase II, tiene cuatro dominios: los dominios de unión al péptido (α_1 o β_1), dominio de la superfamilia de las inmunoglobulinas (α_2 o β_2), la región transmembranal, y el dominio citoplasmático.⁵

Los genes de Clase I están expresados por la mayoría de las células somáticas; su nivel de expresión varía dependiendo del tejido.² En contraste, los genes de Clase II son normalmente expresados por un

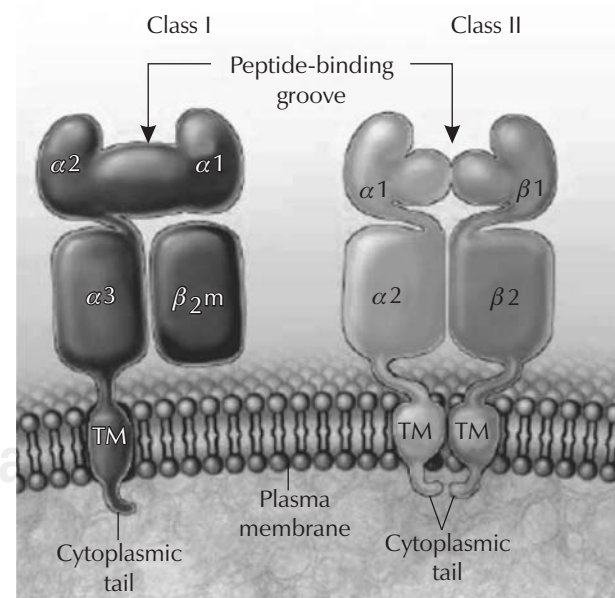


Figura 2. Estructura de las moléculas Clase I y Clase II.

subgrupo de células inmunes que incluyen células B, linfocitos T activados, macrófagos, células dendríticas y células foliculares epiteliales. En presencia de interferón- α , sin embargo, otro tipo de células pueden expresar moléculas de Clase II. La función de las moléculas, tanto Clase I y II, es la de presentar péptidos antigénicos a los linfocitos T, un proceso que inicia con la respuesta inmune adaptativa.²

Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) o trasplante de médula ósea (TMO) es en la actualidad el tratamiento de elección de diversas enfermedades hematológicas, oncológicas, congénitas e inmunodeficiencias,⁶ reservado para aquellos pacientes que no tienen otra posibilidad de tratamiento. El TMO consiste en la infusión endovenosa de células progenitoras del sistema hematopoyético en un paciente con una enfermedad de dicho sistema o con un cáncer. La fuente de progenitores hematopoyéticos puede ser un donante HLA compatible (allogénico) o bien del mismo paciente (autólogo) en patologías malignas que no comprometen la médula ósea.⁷ En el trasplante allogénico de médula ósea la compatibilidad HLA es una barrera biológica importante. Las frecuencias alélicas y haplotípicas HLA son utilizadas para determinar la probabilidad de encontrar un donante con un fenotipo particular HLA y para predecir el efecto de diversos esquemas de adjudicación basados en la compatibilidad en este sistema.⁸ Técnicamente es posible obtener dichas células progenitoras de la médula misma mediante punción y aspiración repetida del hueso ilíaco⁹ o bien de la sangre periférica mediante leucoféresis después de tratar al donante con factores estimulantes hematopoyéticos,¹⁰ también pueden obtenerse de las células contenidas en la sangre del cordón umbilical y la placenta donadas por las madres, inmediatamente después del parto. Los objetivos del TMO pueden ser: 1) aportar un nuevo sistema hematopoyético y linfático para corregir una patología, y 2) rescatar a un paciente oncológico de altas dosis de quimioterapia y/o radioterapia.¹¹

El papel del sistema HLA en el trasplante de CPH

Conocido el extraordinario polimorfismo del sistema HLA, la probabilidad de encontrar dos individuos no relacionados con antígenos idénticos es muy baja.¹²

Por este motivo, se recurre en primera instancia a los hermanos del paciente. Los genes de un haplotipo HLA (HLA-A, B, Cw, DR, DQ y DP que se hereda del padre o de la madre) se transmiten en bloque (los entrecruzamientos son muy raros), por lo que el que dos hermanos sean o no HLA idénticos es una cuestión de probabilidades (poseen un 25% de probabilidades de compartir los dos haplotipos y por tanto de ser HLA idénticos, 50% de compartir un haplotipo y ser HLA haploidenticos y 25% de no compartir ningún haplotipo). Cuando no existe un hermano HLA idéntico, es necesario recurrir a la población en general; para ello, existe un registro internacional de donantes tipificados para Clase I y Clase II. También es posible realizar una búsqueda familiar ampliada (tíos y primos). De forma práctica, la estrategia utilizada es la siguiente: primero se realiza la tipificación genética de HLA-A, B y DRB1 de baja resolución del paciente, sus hermanos y sus padres. Se considerará que un hermano es HLA idéntico, y por tanto un donante ideal aquel que comparte estos locus. Si no es posible el estudio familiar o un progenitor es homocigoto, se completa el estudio a HLA-A, B, Cw y DRB1 de alta resolución. Se considera un donante familiar aceptable el que comparte 7 de 8 especificidades.¹³ Si no tenemos un donante en estas condiciones es necesaria su búsqueda en el registro internacional. Se requieren al menos 7 de 8 compatibilidades a nivel de HLA-A, B, Cw y DRB1 a nivel de alta resolución (donante aceptable). Si hubiera más de 1 donante con las 8 compatibilidades (donante ideal) se amplía la tipificación a DRB3, 4, 5, DQB1 e incluso DPB1. En el caso de búsqueda de unidades de sangre de cordón umbilical (SCU) tan sólo se tipifica HLA-A y B de baja resolución y DRB1 de alta resolución. Un donante ideal comparte 6 de 6 compatibilidades aunque se aceptan hasta 4 de 6.¹⁴ Si alguno de los haplotipos familiares es frecuente (más del 1%), se realiza simultáneamente o tras fracasar la búsqueda en el registro internacional una búsqueda familiar ampliada. Se elige inicialmente la rama de la familia con el haplotipo menos frecuente ya que la probabilidad de encontrarse éste entre los familiares es mayor, y siempre será más posible hallar al azar el otro que es más frecuente en la población general.

Por último, se están tratando de crear las bases que permitan a los padres tener un hijo HLA idéntico a un hermano que necesita un TMO. Técnicamente es posible, pero su principal obstáculo es solucionar los problemas legales y éticos que suscita una elección de este tipo.^{14,15}

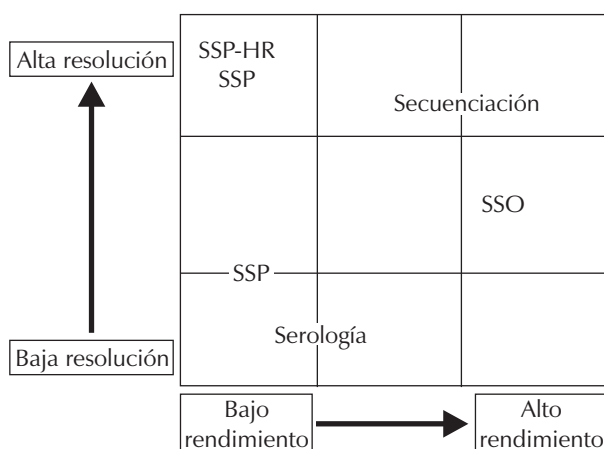


Figura 3. Comparativo del rendimiento y resolución de las técnicas moleculares para tipificación HLA.

Técnicas para la tipificación HLA

Es necesaria la correcta tipificación HLA tanto en el trasplante de órganos sólidos como en el TMO. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un método rápido y simple para copiar y amplificar secuencias específicas de DNA de hasta 1 kilobase de longitud. Para utilizar este método es necesario conocer la secuencia de una porción corta de DNA en cada extremo de la secuencia grande que se quiere copiar. Existen varios métodos para una correcta tipificación HLA, uno de ellos basado en la utilización de iniciadores de secuencia específica (PCR-SSP), el cual maneja una gran flexibilidad en su resolución (la determinación exacta y precisa del alelo), la especificidad de los alelos HLA se determina utilizando un par de iniciadores que puede amplificar uno o varios alelos. Tiene como ventaja el grado de resolución pudiendo ser de baja, mediana o alta resolución, la desventaja que presenta es que no es un método recomendable para grandes volúmenes de trabajo por su tiempo de ejecución. Otro de los métodos empleados en la tipificación HLA basado en la utilización de sondas de oligonucleótidos de secuencia específica (PCR-SSOP), generalmente utiliza iniciadores específicos de locus para amplificar todas las secuencias alélicas codificadas por un solo locus. Los alelos específicos o grupos de alelos amplificados son determinados por sondas de oligonucleótidos marcadas. La ventaja de este método es que pueden manejarse grandes volúmenes de muestras, por su grado

de automatización, recomendado para la tipificación HLA en el trasplante de órganos sólidos (Renal), maneja una resolución mediana, no obstante que puede manejar alta resolución al utilizar tecnología de fluorescencia para su determinación (Figura 3). Por último, otro de los métodos empleados es el que está basado en la secuenciación del ADN; es un método altamente sensible para la identificación de alelos Clase I; muchos laboratorios en todo el mundo emplean este método por su alta resolución para identificar alelos para diagnóstico e investigación o bien para la resolución de problemas de ambigüedad en la tipificación HLA. Existen otros métodos empleados, como aquellos basados en la utilización del polimorfismo de fragmentos largos de restricción (PCR-RFLP); sin embargo, todos estos métodos basados en el uso de ácidos nucleicos para la tipificación HLA, suelen ser rápidos, exactos y competitivamente económicos, comparados con los métodos serológicos, tomando en cuenta el grado de resolución y precisión en la determinación alélica para el trasplante.^{16,17}

Referencias

1. Mackay I, Rosen FS. The HLA System. N Engl J Med 2000; 343: 702-709.
2. Klein J. Natural history of the major histocompatibility complex. New York: John Wiley, 1986.
3. Klein J, Horejsí V. Immunology. 2nd ed. Oxford, England: Blackwell Scientific, 1998.
4. Forbes SA, Trowsdale J. The MHC quarterly report. Immunogenetics 1999; 50: 152-9.
5. Klein J, Sato A. Birth of the major histocompatibility complex. Scand J Immunol 1998; 47: 199-209.
6. Sanders J. Bone Marrow Transplantation in pediatric oncology. In: Pizzo PA, Poplack DG. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Lippincott Raven, Philadelphia, 1997: 357-378.
7. Thomas ED, Storb R, Clift RA. Bone marrow transplantation. N Engl J Med 1975; 292: 832-843.
8. Bengochea M, Álvarez I, Hidalgo PC, Cabrera A, Senatore O, Toledo R et al. HLA-A, -B, -DR en receptores de trasplante de médula ósea en Uruguay: Sistema Nacional de registro, tipificación y búsqueda de donantes de médula ósea y progenitores hematopoyéticos. Rev Méd Urug 2003; 19 (2): 149-158.
9. Buckner CD, Clift RA, Sanders J. Marrow harvesting from normal donors. Blood 1984; 64: 630-634.
10. Bensinger W, Singer J, Applebaum F. Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant granulocyte-stimulating factor. Blood 1993; 81: 3158-3163.
11. Barriga F, Baeza R, Pereira J, Besa P, Caldumbide I, Medel M. Trasplante de médula ósea en pacientes pediátricos. Rev Chil Pediatr 1999; 70 (3): 194-200.
12. Little M, Parham P. Polymorphism and evolution of HLA class I and II genes and molecules. Rev Immunogenetics 1999; 1: 105-123.

13. Ringden O, Schaffer M, Le Blanc K, Persson U, Hauzenberger D, Abedi MR et al. Which donor should be chosen for hematopoietic stem cell transplantation among unrelated HLA-A, -B, and -DRB1 genomically identical volunteers? *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; 10: 128-134.
14. Arcese W, Rocha A, Labopin M, Sanz G, Lori A, De Lima M et al. Unrelated cord blood transplants in adults with hematologic malignancies. *Hematologica* 2006; 91: 223-230.
15. Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R, Watanabe M, Shimizu-Saito K, Hara Y et al. Human Umbilical Cord Blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells. *Stem Cells* 2003; 21: 217-227.
16. American Society for Histocompatibility and Immunogenetics. Laboratory Manual. ASHI. Cuarta edición. Vol. II. 2000, EE.UU.
17. Glenn ER. HLA Beyond Tears. Introduction to Human Histocompatibility. De Novo Inc, Segunda edición, 2000, EE.UU.

Correspondencia:

Julio César Martínez Álvarez

Av. Cuauhtémoc Núm. 330.

Col. Doctores. México, D.F.

Teléfono: 5 627 69 00 Ext. 21727.

Fax: 5 440 05 04.

E-mail: juliocesar_ma@yahoo.com.mx

www.medigraphic.com