

A propósito del primer año del Centro de Ingeniería Celular y Trasplante de Órganos y Tejidos (CICEL)

With regard to the first year of the Center of Cellular Engineering and organ and tissue transplantation (CICEL)

En enero del 2013 se celebró el primer aniversario de la inauguración del CICEL por el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI), que ocurrió el 15 de dicho mes. Este es un centro dedicado a introducir y desarrollar la tecnología celular y molecular en el trasplante, la inmunohematología, el diagnóstico molecular de las hemopatías y el cultivo celular para la medicina regenerativa.

Los esfuerzos en este primer año estuvieron encaminados, principalmente, a la inmunología del trasplante renal y de células hematopoyéticas a partir de la introducción del tipaje molecular HLA, los estudios de anticuerpos anti-HLA clase I y II por la técnica de ELISA en fase sólida, la determinación de la especificidad de los anticuerpos anti-HLA y la validación de la citometría de flujo como prueba cruzada pretrasplante renal. Se caracterizaron también los anticuerpos contra los antígenos de los grupos sanguíneos en los pacientes en espera de trasplante renal, por los métodos que tradicionalmente se realizan en el IHI en el estudio de los pacientes politransfundidos, para evitar las reacciones transfusionales hemolíticas y otros efectos adversos de la transfusión.

Hasta enero de este año se habían procesado 845 muestras de pacientes en espera de trasplante renal procedentes de todo el país, además de 39 pacientes con hemopatías malignas y 150 familiares para valorar el trasplante de médula ósea. Se creó una base de datos con la información solicitada por el CICEL y aportada por los médicos de asistencia y una seroteca para los estudios necesarios en el pretrasplante.

Los métodos moleculares comenzaron con la comparación de la extracción de ADN en muestras colectadas en diferentes condiciones, para definir los requisitos de su traslado, en especial cuando provienen de las regiones más distantes del centro. Los estudios demostraron la factibilidad de la extracción de ADN de los linfocitos de ganglios linfáticos, así como de sangre total y de la capa leucocitaria obtenida de

muestras frescas y congeladas. Estos resultados se presentaron en el Congreso Hematología 2013, y el trabajo obtuvo, además, la condición de relevante en el XVI Fórum de Ciencia y Técnica.¹

La tipificación molecular HLA en los primeros 400 pacientes en espera de trasplante renal permitió determinar la frecuencia de 20 antígenos del locus A, 30 del locus B, 13 del DRB1 y 5 del DQB1, y se encontraron diferencias en la frecuencia de los antígenos A*23, DRB1*13 y DQB1*04 en las diferentes regiones del país. Estos resultados permitirán proyectar estrategias relacionadas con la donación y la compatibilización HLA de órganos a nivel nacional.

La presencia de anticuerpos anti-HLA es una determinación indispensable con la que se estima la probabilidad de encontrar un órgano compatible.² El estudio de 868 casos identificó anticuerpos anti-HLA clase I en el 44 % y de anti-HLA clase II en el 35 % de los pacientes, todos relacionados con los antecedentes de transfusión de concentrado de eritrocitos, lo que sugiere la necesidad de evaluar la política transfusional en este grupo de pacientes.

La prueba cruzada pretrasplante renal es una determinación obligatoria cuyo objetivo es detectar la presencia de anticuerpos anti-HLA en el receptor, contra los antígenos del donante que provocan el rechazo agudo del órgano trasplantado.³ Los métodos para su realización han variado con el tiempo, a fin de aumentar la sensibilidad de las determinaciones. La citometría de flujo es mucho más sensible porque detecta anticuerpos no revelados por la técnica de citotoxicidad tradicionalmente usada, pero es difícil de estandarizar y requiere de preparación y experticia.⁴ La estrategia usada para su implementación y validación fue la obtención de los leucocitos del donante por método de sedimentación en gradiente de Ficoll, la resuspensión de las células en tampón fosfato salina con azida sódica para disminuir la fluorescencia de las linfocitos B, la realización del ensayo en microplacas para el análisis de un gran número de muestras, y el empleo de anticuerpos monoclonales anti-CD3 y anti-CD19 marcados con fluorocromos específicos para realizar la prueba cruzada T y B en una misma lectura. Los anticuerpos se revelan con el uso de anti-IgG marcado con FITC. Con este procedimiento se han realizado, desde octubre de 2013, 150 pruebas cruzadas por citometría de flujo en 5 operativos del programa de donante cadáver y en 35 receptores de trasplante de donante vivo. En el 24 % de los posibles receptores se demostraron anticuerpos contra antígenos del donante, en su mayoría anti-HLA clase I, que invalidó el trasplante y se evitó el rechazo del órgano.

En los estudios de inmunohematología en una muestra de 800 pacientes se encontró el 3 % de aloinmunización contra antígenos eritrocitarios. En el 85 % de los casos, los anticuerpos mostraron especificidad para los antígenos C y E del sistema Rh, lo que implica garantizar la transfusión de hematíes fenotipados para evitar las reacciones transfusionales hemolíticas que pueden agravar el cuadro clínico en el paciente con enfermedad renal crónica. Por otra parte, en 6 pacientes se demostraron autoanticuerpos eritrocitarios relacionados con anemia autoinmune, en su gran mayoría asociada a otras enfermedades autoinmunes, lo que identifica la etiología de la anemia y de esta forma la evaluación del tratamiento y de la transfusión.

En los pacientes con hemopatías malignas tributarios para recibir trasplante de médula ósea, solo se encontró un donante familiar compatible en el 30 % de los casos, similar a lo comunicado en la literatura internacional. Esto evidencia la necesidad de la introducción y evaluación de otras alternativas de trasplante, así como de la profundización de los estudios moleculares HLA, inmunológicos y de la

aplicación de la terapia celular para ampliar la cobertura de este tratamiento que es curativo para muchas enfermedades hematológicas malignas.⁵

El diagnóstico molecular de las hemopatías se ha ampliado también durante este año, se ha trabajado para garantizar la cobertura nacional de estas investigaciones con lo que se ha triplicado el número de determinaciones realizadas con respecto a años anteriores. Se destacan el estudio de reordenamientos de los genes BCR/ABL y PML/RARα para el diagnóstico de la leucemia mieloide crónica y promielocítica aguda, así como el de la mutación JAK2V617F en las neoplasias mieloproliferativas BCR-ABL negativas.⁶ Los nuevos retos se perfilan en la caracterización molecular de la leucemia mieloide aguda. Estas investigaciones garantizan una certeza diagnóstica y en cuanto al pronóstico de la enfermedad además de una mejor evaluación del tratamiento.

En lo que respecta al cultivo celular se caracterizó una línea de células mesenquimales que se evalúa para utilizar en la terapia celular. Estas células son multipotentes con capacidad para diferenciarse en diversos tipos celulares y además con efecto inmunorregulador, que las hace útiles, tanto para la terapia regenerativa como para evitar el rechazo de trasplante.⁷

Todos estos resultados están relacionados con cinco proyectos ramales de investigación, tres de ellos con la histocompatibilidad y la inmunohematología del trasplante renal, y los dos restantes con la caracterización de los oncogenes en la leucemia mieloide aguda y el establecimiento de una línea de células mesenquimales para la terapia regenerativa.

Sin dudas, un aniversario con mucho trabajo y resultados que mostrar, que avizoran nuevos retos y logros de todos los trabajadores del IHI, un colectivo comprometido en el empeño de incrementar el estado de salud de nuestra población.

DrC. Antonio A. Bencomo Hernández

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chang Monteagudo A, Morera Barrio LM, Ustariz García C, Bencomo Hernández A. Optimización de la extracción de ADN para la tipificación molecular del sistema HLA. Congreso Hematología 2013. La Habana, Cuba.
2. Zwang NA, Turka LA. Transplantation immunology in 2013: New approaches to diagnosis of rejection. *Nat Rev Nephrol.* 2014; 10: 72-4. doi: 10.1038/nrneph.2013.262
3. Kumbala D, Zhang R. Essential concept of transplant immunology for clinical practice. *World J Transplant.* 2013 Dec; 3(4): 113-8.
4. Tait BD, Süsal C, Gebel HM, Nickerson PK, Zachary AA, Claas FHJ, et al. Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with

HLA and Non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation*. 2013 Jan; 95(1): 19-47.

5. Martelli MF, Di Ianni M, Ruggeri L, Pierini A, Falzetti F, Carotti A, et al. "Designed" grafts for HLA-haploidentical stem cell transplantation. *Blood*. 2014 Feb; 123(7): 967-73. doi: 10.1182/blood-2013-10-531764

6. Amor-Vigil AM, Díaz-Alonso CA, Garrote-Santana H, Suárez-González Y, Fernández-Delgado N, Ávila-Cabrera O. Introducción del estudio molecular de la mutación JAK2V617F en neoplasias mieloproliferativas clásicas BCR-ABL negativas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [revista en la Internet]*. 2013 Dic [citado Ene 12 2014]; 29(4): 398-406. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892013000400009&lng=es

7. Tan J, Wu W, Xu X, Liao L, Zheng F, Messinger S. Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplantation: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2012; 307(11): 1169-77.

DrC. *Antonio A. Bencomo Hernández*. Director del Centro de Ingeniería Celular y Trasplante de Órganos y Tejidos. Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.