

PRESENTACIÓN DE CASO

Haplotipo HLA infrecuente en un estudio familiar de histocompatibilidad para trasplante de células progenitoras hematopoyéticas

Non frequent HLA haplotype in a family-based histocompatibility study for hematopoietic stem cell transplantation

Catalino R. Ustariz García, María de los A. García García, Arturo Chang Monteagudo

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Ante una indicación de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas se realiza la tipificación de los antígenos HLA de clase I y clase II al receptor y sus posibles donantes. En el departamento de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología de La Habana se realizó un estudio familiar de histocompatibilidad a una paciente diagnosticada de leucemia linfocítica aguda Ph+. La paciente y el padre presentaron el haplotipo HLA-A*03:01 B*39:10 C*12:03 DRB1*15:03 DQB1*06:02, que se identificó en el abuelo paterno, aunque por técnicas de baja resolución. A su vez, en el hermano y la madre también se tipificó un haplotipo compuesto por estos mismos alelos HLA-A, B, C, DRB1 y DQB1; y que se detectó en baja resolución en el abuelo materno. Sorprendentemente la paciente era HLA idéntica a la madre, cuando se esperaría que solo compartieran la mitad de los genes HLA. El hecho de que el haplotipo objeto de estudio apareciera en ambos padres de la paciente, quienes provenían de familias sin vínculos de parentesco conocido en al menos dos generaciones pasadas, puede considerarse un evento poco probable. Las investigaciones inmunogenéticas que están basadas en la tipificación HLA, no solo contribuyen a la selección de la mejor pareja donante receptor, sino que permiten a caracterizar el patrimonio genético del país.

Palabras clave: trasplante de médula ósea; trasplante de células progenitoras hematopoyéticas; HLA; pruebas de histocompatibilidad.

ABSTRACT

When a hematopoietic stem cell transplantation is indicated, the HLA class I and class II antigens are typed in the recipient and its possible donors. In the Histocompatibility department of the Institute of Hematology and Immunology of Havana, a family-based histocompatibility study was performed to a patient diagnosed with Ph+ acute lymphoid leukemia. The patient and the father presented the haplotype HLA-A*03:01 B*39:10 C*12:03 DRB1*15:03 DQB1*06:02, which was also identified in the paternal grandfather by low resolution techniques. In turn, a haplotype, composed of the same HLA-A, B, C, DRB1 and DQB1 alleles, was typed in the mother and the sibling and it was detected in low resolution in the maternal grandfather. Surprisingly, the patient was HLA identical to the mother, when they would be expected to share only half of the HLA genes. The fact that the haplotype under study appeared in both parents of the patient, who came from families without known ties of kinship in at least two past generations, can be considered an unlikely event. Immunogenetic investigations based on HLA typing, not only contribute to the selection of the best recipient donor pair, but also allow characterizing the nation's genetic heritage.

Keywords: bone marrow transplantation; hematopoietic stem cell transplantation; HLA; histocompatibility testing,

INTRODUCCIÓN

El desarrollo de la trasplantología se produjo a partir del descubrimiento del sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA, del inglés *human leucocyte antigens*), en el siglo pasado, cuando se demostró que la compatibilización entre receptor y donante era imprescindible para la supervivencia del injerto.¹

Se considera que el HLA es el sistema antigénico más polimórfico y complejo que existe en los vertebrados: se han definido por métodos serológicos más de 200 antígenos y se han identificado por técnicas de biología molecular más de 5 000 alelos.^{2,3}

Los HLA están codificados en una región del genoma conocida como "complejo principal de histocompatibilidad" (MHC, por el término en inglés *major histocompatibility complex*), que se encuentra en el brazo corto del cromosoma 6. Estos genes se expresan de forma codominante y se transmiten a la descendencia siguiendo las leyes de Mendel, cada progenitor aporta la mitad del HLA que tienen los descendientes.¹

Los diferentes genes MHC que se transmiten entre generaciones se denominan haplotipo; y cada persona hereda uno del padre y otro de la madre. De esta forma, los hijos tienen el 25 % de posibilidades de ser idénticos entre sí, habiendo heredado los mismos haplotipos; otro 25 %, de ser completamente diferentes; y el 50 % de ser haploidenticos, es decir, de compartir solo un haplotipo.⁴

Ante una indicación de un trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH), la conducta inicial es realizar la tipificación de los antígenos HLA de clase I y clase II al receptor, los hermanos y a ambos padres, siempre que sea posible. Con este estudio se determina si el paciente y alguno de los hermanos son idénticos y se puede realizar el trasplante alogénico relacionado.⁵

Si alguno de los hermanos compartiera solo un haplotipo HLA con el receptor, cabría plantearse la posibilidad de realizar un trasplante haploidéntico, en el que pudiera ser también donante alguno de los padres, ya que necesariamente cada uno de ellos ha aportado un haplotipo al hijo enfermo.⁶

Si en el estudio familiar no fuera posible realizar un trasplante alogénico relacionado idéntico o haploidéntico, la única posibilidad sería realizar un trasplante alogénico no relacionado buscando un donante en los registros de sangre del cordón umbilical o de donantes voluntarios de médula ósea. Esta estrategia se sigue desde el primer momento en el caso de que el paciente no tenga hermanos.⁷

Debido al fenómeno de desequilibrio de ligamiento, la asociación entre los genes de diferentes *loci* del sistema HLA normalmente es mayor o menor de lo que cabría esperarse por simples combinaciones aleatorias. De esta forma, existen haplotipos muy frecuentes en la población y otros que aparecen en raras ocasiones, lo que facilita o dificulta la probabilidad de que un receptor pueda encontrar un donante alogénico no relacionado.⁴

PRESENTACIÓN DEL CASO

Paciente femenina con diagnóstico de leucemia linfocítica aguda Ph+ a la que se le realizó un estudio familiar de histocompatibilidad para TCPH en el departamento de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) de La Habana.

A la paciente, el hermano, los dos padres y los cuatro abuelos se les tomó una muestra de sangre venosa periférica. Para el aislamiento de ADN se utilizó un extractor automático "QIAcube" con el sistema "QIAamp DNA Blood Mini" (QIAGEN, Alemania).

A todos los familiares se les tipificaron los *loci* HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 y HLA-DQB1 por baja resolución. Adicionalmente a la paciente, el hermano y los padres se les extendió la tipificación al *locus* HLA-C y se determinaron por alta resolución los alelos de los *loci* mencionados. Se utilizaron los estuches *Olerup SSP® HLA-A-B-DR-DQ Combi Tray*, *Olerup SSP® HLA-C Low Resolution* y *Olerup SSP® High Resolution* (Olerup, Suecia).

Todas las muestras se procesaron en iguales condiciones, en el mismo local, a la misma temperatura ambiental y por el mismo técnico. Los resultados de las tipificaciones HLA fueron validados y comprobados por otro profesional del departamento. Los haplotipos se determinaron de forma manual y se estimaron mediante el algoritmo EM con el programa Arlequín versión 3.5.2.2.

La paciente y el padre presentaron el haplotipo HLA-A*03:01 B*39:10 C*12:03 DRB1*15:03 DQB1*06:02, que se identificó en baja resolución en el abuelo paterno. A su vez, en el hermano y la madre también se tipificó un haplotipo, compuesto por estos mismos alelos HLA-A, B, C, DRB1 y DQB1, y que se detectó en baja resolución en el abuelo materno (Fig.).

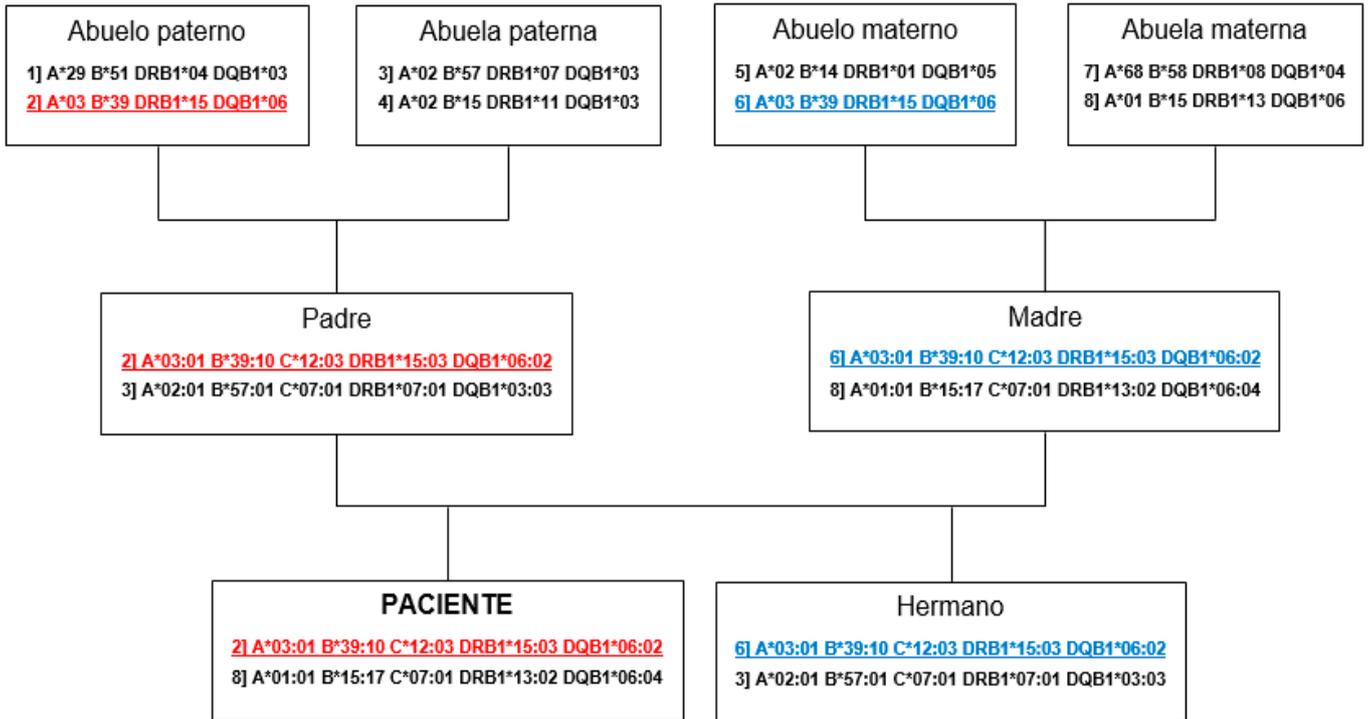


Fig. Segregación de los haplotipos HLA en estudio familiar de histocompatibilidad de paciente con leucemia linfocítica aguda Ph+.

DISCUSIÓN

En 40 años de estudios familiares de histocompatibilidad en el IHI para el TCPH de toda Cuba, nunca antes se encontró que un matrimonio compartiera un haplotipo. En una población en la que exista panmixia, es decir, que los apareamientos sean aleatorios, la probabilidad de que dos miembros de una pareja presenten igual haplotipo depende fundamentalmente de la frecuencia del mismo.⁴

Los estudios inmunogenéticos previos del presente grupo de investigación no encontraron en Cuba el haplotipo HLA-A*03 B*39 DRB1*15 DQB1*06. Estos genes HLA por separado no son infrecuentes en los cubanos, pero el haplotipo como tal sí lo es, lo cual puede explicarse por el fenómeno de desequilibrio de ligamiento.⁴

En hispanos el haplotipo formado por los alelos HLA-A*03:01 B*39:10 C*12:03 DRB1*15:03 DQB1*06:02 ocupa el lugar 6 062 de 21 396, con una frecuencia de 0,000018. En caucásicos se ha identificado en el orden 13 759 de 37 645, con una frecuencia de 0,000003. Sin embargo, este no se reporta en individuos de ningún país asiático.⁸

El hecho de que el haplotipo objeto de estudio apareciera en ambos padres de la paciente, los cuales provenían de familias sin vínculos de parentesco conocido, en al menos dos generaciones pasadas, puede considerarse un evento raro y poco probable. Debido a esta coincidencia, sorprendentemente la paciente era HLA idéntica a la madre, cuando se esperaría que solo compartieran la mitad de los genes HLA.

Para evitar una interpretación errónea que podría derivar en un episodio de rechazo en un TCPH, ⁹ las instituciones que norman los protocolos para los estudios de histocompatibilidad como la Federación Europea de Inmunogenética (EFI) sugieren que la resolución de haplotipos ambiguos se haga mediante la tipificación HLA en baja resolución de los padres, con la ampliación al *locus* HLA-C y HLA-DQB1, o mediante el empleo de métodos de alta resolución. En el presente estudio se utilizaron al mismo tiempo las tres recomendaciones.^{5,10}

Las investigaciones inmunogenéticas que están basadas en la tipificación HLA por técnicas de biología molecular, no solo contribuyen a la selección de la mejor pareja donante receptor, sino que contribuyen a caracterizar el patrimonio genético del país.⁴

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Major Histocompatibility Complex Molecules and Antigen Presentation to T Lymphocytes. Cellular and Molecular Immunology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier/Saunders; 2015. p. 107-35.
2. Schofl G, Lang K, Quenzel P, Bohme I, Sauter J, Hofmann JA, et al. 2.7 million samples genotyped for HLA by next generation sequencing: lessons learned. BMC genomics. 2017;18(1):161.
3. Brown NK, Kheradmand T, Wang J, Marino SR. Identification and characterization of novel HLA alleles: Utility of next-generation sequencing methods. Hum Immunol. 2016;77(4):313-6.
4. Zachary AA, Steinberg AG. Statistical Analysis and Applications of HLA Population Data. In: Rose NR, de Macario EC, Folds JD, Lane HC, Nakamura NM, editors. Manual of Clinical Laboratory Immunology. 5th ed. Washington DC: ASM Press; 1997. p. 132-40.
5. EFI: Standards For histocompatibility & Immunogenetics Testing. Version 6.3. 2015.
6. Martelli MF, Ianni MD, Ruggeri L, Falzetti F, Carotti A, Reisner Y, et al. Next generation HLA-haploidentical HSCT. Bone Marrow Transplant. 2015;50 Suppl 2:S63-6.
7. Ballen KK, Koreth J, Chen YB, Dey BR, Spitzer TR. Selection of optimal alternative graft source: mismatched unrelated donor, umbilical cord blood, or haploidentical transplant. Blood. 2012;119(9):1972-80.
8. NMDP. Haplotype Frequencies 2017 [cited Nov 2017]. Available from: http://bioinformatics.nmdp.org/HLA/Haplotype_Frequencies/index.html?src=review.
9. Fuji S, Kanda J, Kato S, Ikegame K, Morishima S, Miyamoto T, et al. A single high-resolution HLA mismatch has a similar adverse impact on the outcome of related hematopoietic stem cell transplantation as a single low-resolution HLA mismatch. Am J Hematol. 2015;90(7):618-23.
10. Bochtler W, Maiers M, Bakker JN, Baier DM, Hofmann JA, Pingel J, et al. An update to the HLA Nomenclature Guidelines of the World Marrow Donor Association, 2012. Bone Marrow Transplant. 2013;48(11):1387-8.

Recibido: 31 de enero de 2017.

Aprobado: 8 de agosto de 2017.

Dr. Catalino R. Ustariz García. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268.
Correo electrónico: rchematologia@infomed.sld.cu