

Estrategias de tipificación del HLA-B*27 para apoyar el diagnóstico de enfermedades autoinmunes

HLA-B*27 typing strategies to support the diagnosis of autoimmune diseases

Catalino Ronal Ústariz García¹ <https://orcid.org/0000-0001-7095-5660>

Arturo Chang Monteagudo^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-0843-372X>

¹Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: rchematologia@infomed.sld.cu

Recibido: 02/02/2020

Aceptado: 30/11/2020

Al director:

*El sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA, del inglés human leukocyte antigens) además de participar en la respuesta contra infecciones, se asocia a algunas enfermedades con base inmunológica. En particular, el HLA-B*27 es uno de los antígenos relacionados con enfermedades tales como la espondilitis anquilosante, la enfermedad de Reiter, la uveítis anterior aguda y la enfermedad inflamatoria intestinal.^(1,2)*

*La detección del HLA-B*27 se realiza rutinariamente para apoyar el diagnóstico de la espondilitis anquilosante, pues 90 % de los pacientes con esta enfermedad, son positivos a ese antígeno, en comparación con el 8 % de las personas sanas. Por lo que se infiere que la determinación del HLA-B*27 es de suma importancia, aunque por sí sola no permite el diagnóstico de certeza.⁽³⁾*

*El HLA-B*27 puede identificarse por varios métodos de laboratorio. Uno de ellos es la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), que se basa en incubar los linfocitos del sujeto con sueros que contengan anticuerpos contra el HLA. Como los anticuerpos son policlonales se incluyen algunos que reconozcan antígenos similares al HLA-B*27 de forma que se pueda identificar un falso positivo debido a una reacción cruzada.⁽⁴⁾*

*El primer método de biología molecular que se utilizó con verdadera utilidad práctica para identificar HLA-B*27, se conoce como reacción en cadena de la polimerasa con cebadores específicos de secuencia (PCR-SSP, del inglés de polymerase chain reaction - specific sequence primers), que se basa en utilizar los cebadores correspondientes para que la enzima TAQ polimerasa amplifique de forma selectiva los genes del HLA-B*27, los cuales se verifican en una etapa pos-PCR mediante una electroforesis.⁽⁵⁾*

*Una variación de esta metodología se puede adaptar a los sistemas de PCR en tiempo real, en los cuales la identificación de los genes del HLA-B*27 no se hace por punto final mediante una electroforesis, sino a medida que van ocurriendo los ciclos de amplificación. Para ello se requiere un equipamiento más costoso, que normalmente no se adquiere solo para esta genotipificación, sino también para ejecutar otras técnicas de biología molecular cuantitativas.^(1,6)*

Actualmente existe otro sistema de tipificación HLA, basado en oligonucleótidos específicos de secuencia o SSO (del inglés equence-specific oligonucleotides), los cuales se hibridan de forma complementaria con el ADN humano previamente amplificado por PCR. Las tipificaciones HLA por PCR-SSO se interpretan en un fluoroanalizador multiparamétrico Luminex.^(5,7)

*Este sistema es costoso, al igual que el PCR en tiempo real, pero no detecta solo el HLA-B*27, sino que, en un pozo de reacción, se hace una tipificación completa del locus HLA-B. Por lo tanto, tiene la ventaja de identificar los dos alelos HLA-B, cualesquiera que estos sean y de resolver las posibles incongruencias de los otros métodos.⁽⁵⁾*

*Las pruebas realizadas por CDC o por metodología basada en biología molecular, generalmente requieren de personal especializado y procedimientos de control de calidad, que muchos laboratorios de diagnóstico pueden no tener. Por estas razones se ha utilizado ampliamente la detección de HLA-B*27 por citometría de flujo.⁽⁸⁾*

*Los reactivos para la identificación del HLA-B*27 por citometría de flujo incluyen un anticuerpo monoclonal específico conjugado con un fluorocromo como el isotiocianato de fluoresceína o la ficoeritrina. Para descartar falsos positivos puede utilizarse al mismo tiempo otro monoclonal contra un antígeno que tenga reacción cruzada con el HLA-B*27 como lo es el HLA-B*07. Algunos sistemas también incluyen un anti-CD3 para identificar los linfocitos T.⁽⁸⁾*

Para analizar el ensayo en el citómetro de flujo se identifica una población de linfocitos o linfocitos T. Esto se puede hacer usando las propiedades intrínsecas de las células como tamaño y complejidad, o extrínsecas como la unión a CD3. A partir de la población de linfocitos, la unión del anticuerpo anti-HLA-B27 se determina en comparación con los controles negativos y positivos.⁽⁸⁾

*La principal desventaja de la detección de HLA-B*27 por citometría de flujo, es la citada reactividad cruzada del anticuerpo anti-HLA-B*27 con el llamado grupo de antígenos de reacción cruzada (CREG, del inglés cross-reactive group) B7, que incluyen HLA-B*07, HLA-B*13, HLA-B*22, HLA-B*37 y HLA-B*42.⁽⁸⁾*

*Si el individuo presentara uno de estos antígenos del CREG B7, no siempre es posible la resolución de las ambigüedades y prácticamente se hace obligatorio aplicar la biología molecular para confirmar la presencia o ausencia del HLA-B*2. Por lo que un centro que incluya esta determinación como servicio, de forma ideal necesita de un laboratorio HLA de referencia.⁽⁸⁾*

*La detección de HLA-B*27 por citometría puede abaratar costos, particularmente cuando el número de muestras es elevado, pero debería aplicarse solo como un*

*método de tamizaje. Para mantener una elevada calidad de los resultados, ante una citometría de HLA-B*27 positiva, se puede utilizar como confirmatorio el PCR en tiempo real.⁽⁶⁾*

*Por otra parte, sería ideal contar con una técnica adicional que permita una tipificación completa del locus HLA-B, lo que ayudaría a resolver los casos de curvas dudosas y a identificar el HLA-B*07 que se ha relacionado con espondilo artropatías indiferenciadas y otras enfermedades autoinmunes en poblaciones HLA-B*27 negativas.⁽⁹⁾*

*Finalmente, para el uso racional de los recursos no basta con la implementación de las tecnologías más eficientes, sino que, la indicación del HLA-B*27 se debe hacer aplicando pensamiento clínico. Solo cuando el médico de asistencia y el laboratorio van de la mano, los pacientes que verdaderamente lo necesitan pueden beneficiarse de los medios diagnósticos de mayor complejidad.*

Referencias bibliográficas

1. Rangel Velázquez S, González García N, Monzón Pérez ME, Ortega Carballosa A, García Menéndez G. Frecuencia del HLA-B*27: algunas consideraciones sobre su uso como herramienta diagnóstica. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2017Dic [acceso 25/01/2020]; 33(4):78-84. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892017000400010&lng=es.
2. Sun L, Wu R, Xue Q, Wang F, Lu P. Risk factors of uveitis in ankylosing spondylitis: An observational study. Medicine. 2016;95(28):e4233.
3. Chen B, Li J, He C, Li D, Tong W, Zou Y, et al. Role of HLA-B27 in the pathogenesis of ankylosing spondylitis. Mol Med Rep. 2017;15(4):1943-51.
4. Mittal KK. Standardization of the HLA typing method and reagents. Report of a workshop held on November 11, 1976, by the Bureau of Biologics, Food and Drug Administration, United States Department of Health, Education and Welfare. Vox Sang. 1978;34(1):58-63.

5. Dunckley H. HLA typing by SSO and SSP methods. *Methods Mol Biol.* 2012;882:9-25.
6. Jang HS, Proos A, Koe L, Anderson J, Fulton R, Fernando SL. High accuracy of HLA-B*27 genotyping by allele-specific real-time polymerase chain reaction in a heterogeneous population compared to flow cytometry and single nucleotide polymorphism detection assays. *Pathology.* 2020;52(2):256-61.
7. Testi M, Andreani M. Luminex-Based Methods in High-Resolution HLA Typing. *Methods Mol Biol.* 2015;1310:231-45.
8. Chheda P, Warghade S, Mathias J, Dama T, Matkar S, Shah N, et al. HLA-B27 testing: A journey from flow cytometry to molecular subtyping. *J Clin Lab Anal.* 2018;32(5):e22382.
9. Sampaio-Barros PD, Conde RA, Donadi EA, Kraemer MH, Persoli L, Coimbra IB, et al. Undifferentiated spondylo arthropathies in Brazilians: importance of HLA-B27 and the B7-CREG alleles in characterization and disease progression. *J Rheumatol.* 2003;30(12):2632-

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses

Contribuciones de los autores

Catalino Ronal Ústariz García: selección de bibliografía utilizada, redacción del borrador, recopilación de la información, revisión de su contenido intelectual y aprobación de la versión final.

Arturo Chang Monteagudo: concepción de la idea, selección de la bibliografía utilizada, redacción y revisión crítica de su contenido intelectual, y aprobación de la versión final.