

Tipificación molecular de los antígenos leucocitarios humanos, Estado del arte y perspectivas para los trasplantes de células madre en Costa Rica

(Molecular typing of Human Leukocyte Antigens, State-of-the-art and Perspectives for Stem cell Transplantation in Costa Rica)

Esteban Arrieta-Bolaños¹, Lizbeth Salazar-Sánchez²

Resumen

El sistema de antígenos leucocitarios (Human Leukocyte Antigen) es el más polimórfico en el ser humano. Su función la realiza regulando la respuesta inmune mediante su unión a moléculas como el receptor de células T, participando en la presentación de antígenos y el reconocimiento de lo propio en el organismo. Su papel central en la respuesta inmune así como su polimorfismo convierten a estos genes en un factor fundamental en la terapia con trasplantes, siendo su importancia máxima en los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas. Consecuentemente, la tipificación de estos antígenos en los estudios de compatibilidad ha sido desarrollada de manera paralela y en las últimas décadas se ha avanzado grandemente en su comprensión y caracterización. Varias metodologías moleculares son las que predominan actualmente para la tipificación de los antígenos de histocompatibilidad leucocitarios. La información obtenida de estas caracterizaciones ha permitido la aparición de bancos de donantes de células madre y unidades de cordón umbilical, los cuales amplían la probabilidad de encontrar un donador compatible para el paciente. Los programas de trasplante de células madre hematopoyéticas en nuestro país requieren de un avance en las tecnologías disponibles para tipificación de estas moléculas, así como de la instauración de un registro nacional de donantes basado en su tipificación molecular. El presente trabajo tiene por objetivo presentar el estado del conocimiento actual sobre los antígenos leucocitarios humanos, su genética, su tipificación, sus utilidades y protocolos a seguir en la tecnología de los trasplantes de células madre.

Descriptor: antígenos HLA, prueba de histocompatibilidad, células madre hematopoyéticas, bancos de donantes, Costa Rica

Abstract

The Human Leukocyte Antigen genetic system is the most polymorphic in humans. It plays a central role on immune response regulation by its interaction with molecules like the T-cell receptor, participating in the antigen presentation process and self-recognition. This role added to its polymorphism make the human leukocyte antigens a fundamental factor for transplantation, especially when it comes to hematopoietic stem cell transplants. Consequently, techniques for

¹ Estudiante de Postgrado, Maestría en Microbiología, Investigador Adscrito, Centro de Investigaciones en Hematología y Trastornos Afines, Universidad de Costa Rica. Adquisición de la información, confección y redacción del manuscrito.

² Centro de Investigaciones en Hematología y Trastornos Afines, Universidad de Costa Rica. Nombre de departamento: Centro de Investigaciones en Hematología y Trastornos Afines

Abreviaturas: HLA, human leukocyte antigen; TCM, trasplantes de células madre; TCM-DNR, trasplantes de células madre con donador no relacionado.

Correspondencia: Esteban Arrieta-Bolaños, Centro de Investigaciones en Hematología y Trastornos Afines, UCR. Apdo. Postal 2718-1000 San José, Email: estebanarrieta@yahoo.com

human leukocyte antigen typing for compatibility studies have experienced great development over the last decades. Various molecular typing methodologies currently predominate for this characterization. Information obtained with these technologies has prompted the development of stem cell adult donor registries and cord blood banks which raise the probability of finding a suitable compatible donor for patients in need of transplantation. Stem Cell Transplantation Programs in Costa Rica urgently need the updating to molecular typing technologies for patient-donor compatibility studies. Moreover, the creation of a National Stem Cell Donor Registry and the pursuing of the public Cord Blood Bank need to be addressed. The present review aims to present state-of-the-art concepts and knowledge on human leukocyte antigen genetics, typing strategies and protocols, and applications on stem cell transplantation. Additionally, perspectives for Costa Rican development on these areas are given.

Keywords: HLA antigens, histocompatibility testing, hematopoietic stem cells, donor banks, Costa Rica.

Recibido: 30 de marzo de 2009

Aceptado: 3 de agosto de 2009

Los trasplantes han representado una terapia médica exitosa para muchos padecimientos humanos. El avance en la inmunología y genética de los trasplantes en las últimas décadas ha permitido el perfeccionamiento de este tipo de técnicas, mejorando en gran medida su éxito y el beneficio para el paciente. Los trasplantes de células madre o progenitoras hematopoyéticas (TCM), inicialmente denominados trasplantes de médula ósea, han sido desde hace ya bastante tiempo un importante recurso para el tratamiento y curación en muchos casos de pacientes con enfermedades hematológicas, inmunológicas y metabólicas.

Los requerimientos de histocompatibilidad varían de un tipo de trasplante a otro, pero para el caso de los TCM, estos requisitos son estrictos y determinantes en el éxito del procedimiento. Un elemento fundamental en la compatibilidad entre donante y receptor lo constituye el sistema de antígenos leucocitarios humanos o HLA (por sus siglas en inglés), el cual se compone de una serie de genes y productos genéticos que intervienen directamente en la inmunología de la histocompatibilidad.

Dado que los mejores resultados de un trasplante son obtenidos mediante la máxima compatibilidad donador-receptor, las técnicas para la tipificación de los antígenos del sistema HLA han sido desarrolladas paralelamente a la terapia por trasplante. La evolución de estas técnicas, así como los protocolos seguidos para evaluar la histocompatibilidad, son constantemente mejorados y han sido incorporados en la era de la biología molecular. En virtud del rápido avance en el nivel mundial, es necesario mantenerse al día en cuanto a la inmunogenética del HLA, su tipificación y su manejo en el contexto de los trasplantes, en especial los TCM. Consecuentemente, este trabajo tiene por objetivo presentar el estado del conocimiento actual sobre el HLA, su genética, su tipificación, sus utilidades y protocolos por seguir en la tecnología de los TCM. Se iniciará con un análisis de la biología del HLA, seguido de una evaluación de su papel en los TCM y una explicación de las técnicas actuales para su tipificación, para culminar con

los retos que posee el país en esta materia, en el contexto de los programas de TCM nacionales.

Biología y genética del HLA

Las moléculas del HLA pertenecen al llamado complejo mayor de histocompatibilidad. La función principal de estas es la regulación de la respuesta inmune mediante una unión al receptor de células T durante la presentación de antígenos, o el reconocimiento de lo propio en el cuerpo, o a receptores inhibidores en las células NK.¹ Los genes del HLA se encuentran en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21) y su región comprende 3600 kb, y se divide en las zonas del HLA-I, -II y -III.² En total, el sistema genético del HLA cuenta con 53 genes y pseudogenes, de los cuales 22 son funcionales, e incluyen no solamente a los genes productores de las cadenas del HLA, sino también a otros componentes involucrados en el proceso intracelular de presentación de antígenos (LMP y TAP).³ La región del HLA-I comprende los genes del HLA-A, -B, y -C, cuyos productos, las cadenas α , son expresados en la amplia mayoría de las células nucleadas y plaquetas, con la excepción de los espermatozoides y las células trofoblásticas.⁴ Dicha cadena α se une no covalentemente a la β -2 microglobulina para formar el complejo proteico maduro. La región del HLA-II incluye los genes de los productos HLA-DR, -DQ, y -DP, los cuales están constituidos por 2 cadenas, una α y otra β , y son expresados únicamente en las células presentadoras de antígenos, linfocitos B y linfocitos T activados y células endoteliales.³ Por su parte, la región HLA-III codifica otros componentes del sistema inmune, como proteínas del complemento y el factor de necrosis tumoral.² Un caso particular lo representa el HLA-G, cuyos productos son expresados en una gama restringida de tejidos materno-fetales y cuya función se relaciona con la inmunotolerancia materna.⁵ La región HLA-I se encuentra telomérica, mientras que la HLA-II es más centromérica, con la HLA-III entre estas. El conjunto de HLA-DR posee un gen para cadena α y 4 genes para cadenas β (DRB1, 3, 4, 5), mientras que para el HLA-DQ y -DP solamente hay un gen productor de cadenas α y otro para cadenas β funcionales.

Los genes del HLA poseen un patrón de herencia mendeliano, con la presencia de haplotipos con frecuencias específicas en cada población humana y un ligamiento genético importante con alrededor de un 1% de recombinación.⁴ De hecho, el haplotipo HLA-A1, -B8, -DR17 es el más común en caucásicos con una frecuencia del 5%.²

Polimorfismo del HLA

El sistema del HLA es el más polimórfico del ser humano.² La variabilidad genética en estas moléculas se ubica en los dominios α 1 y 2 del HLA-I y los dominios β 1 de las moléculas de clase II, generando una variedad de especificidades antigénicas. Más aun, actualmente se reconoce la presencia de 3528 alelos en la región. De estos, 2496 pertenecen a genes de clase I y 1032 a genes de clase II, de los cuales 618 corresponden al gen DRB1.⁶ El Cuadro 1 presenta la diversidad antigénica y alélica de los principales genes del HLA. Desde hace unos 15 años, el número de alelos descubiertos se ha disparado exponencialmente y todos los días se publican nuevas secuencias de alelos de individuos de todas partes del mundo.⁷⁻¹⁰ De hecho, se postula que, con la diversidad genética identificada hasta hoy, es posible la existencia de más de 11 millones de haplotipos del HLA, con miles de millones de combinaciones diploides posibles.² Este es quizás el aspecto más importante de la genética del HLA y, como se verá más adelante, representa un factor importantísimo y determinante en el papel de este sistema en la terapia por trasplantes.

El HLA y los trasplantes

La inmunobiología de los trasplantes está determinada, entre otros factores genéticos,¹¹ en gran medida por la influencia del HLA y su rol en el rechazo de tejidos. Como se mencionó previamente, el HLA desempeña un papel central en la regulación de la respuesta inmune, tanto en la presentación de antígenos en el contexto de la inmunidad adquirida, como también en el reconocimiento de lo propio en el organismo.¹ Es este reconocimiento el que puede llevar a determinar el éxito o fracaso de un trasplante.

Los tipos de trasplante que la medicina actual utiliza son diversos y diversos son también sus requerimientos en

cuanto a compatibilidad por HLA. Así, ciertos tipos de trasplante como, por ejemplo, los de córnea, no requieren compatibilidad entre donante y receptor, mientras que aquellos donde se involucre tejido inmune, como los de piel, intestinos y, por supuesto, médula ósea o células madre hematopoyéticas, requieren una estricta compatibilidad para tener éxito.

Los TCM son utilizados como terapia curativa para enfermedades hematológicas neoplásicas o aplásicas, inmunodeficiencias congénitas y enfermedades metabólicas, y son en gran cantidad de casos, la única terapia disponible para el paciente.⁶ Su uso y conocimiento han avanzado mucho desde hace décadas y se afirma que estos poseen entre un 40% y un 60% de éxito, obteniéndose mejores resultados en niños e indicándose para pacientes menores de 60 años. Dichosamente, Costa Rica es uno de los pocos países latinoamericanos en realizar TCM y, hasta hace poco, el único de Centroamérica.

Las enfermedades tratadas con un TCM incluyen: leucemias mieloides, linfoides, inmunodeficiencias como el síndrome de Wiskott-Aldrich o la inmunodeficiencia severa combinada, aplasias medulares, anemias raras como la Diamond Blackfan, talasemia mayor y los síndromes mielodisplásicos. Además, en raras ocasiones es posible su uso en pacientes menores de 50 años que sufren mieloma múltiple. Otras enfermedades tratadas con los TCM incluyen: defectos metabólicos como el síndrome de Hurlers/Hunters, leucodistrofia metacromática o síndrome linfoproliferativo ligado al X.⁶

Existen tres tipos generales de TCM: autólogo, de donante relacionado, y de donante no relacionado.⁶ Los trasplantes autólogos se utilizan como complemento en casos de pacientes con linfomas o tumores sólidos. Por su parte, los TCM no autólogos son comunes en el tratamiento de las alteraciones hemáticas e inmunes ya mencionadas. Los pacientes que van a ser sometidos al trasplante encontrarán en un 30% de los casos, un donador compatible dentro de su núcleo familiar, por lo que el resto depende de un donante no relacionado.

Existen 3 fuentes de células progenitoras hematopoyéticas para su uso en TCM, a saber médula ósea, sangre periférica y sangre de cordón umbilical. Cada fuente tiene sus indicaciones, así como sus ventajas y desventajas. La sangre de cordón es recomendada en trasplantes pediátricos, aunque se ha utilizado con éxito en adultos,¹² a pesar de poseer una baja cantidad de células. La ventaja de esta fuente de células es su mayor "inocencia" inmunológica, lo que hace que los requerimientos en cuanto a compatibilidad donante-receptor, sean menores a los estipulados para otras fuentes de células madre. La médula ósea ha sido la fuente preferida para pacientes adultos desde los inicios de los TCM, sin embargo, día con día esta fuente va siendo reemplazada por la cosecha de células madre de sangre periférica, mediante el uso de sustancias que movilizan estas células a la circulación, como

Cuadro 1. Especificidades antigénicas y alelos presentes en los principales genes del sistema HLA		
Locus	Especificidades antigénicas	Alelos
HLA-A	28	767
HLA-B	62	1178
HLA-C	10	439
HLA-DRB1	21	618
Total	121	3002

Fuente: The IMGT/HLA Sequence Database (23/06/2009)

el factor estimulante de crecimiento granulocítico monocítico y una posterior “cosecha” por medio de un procedimiento de aféresis. La ventaja de la colecta de células madre de sangre periférica es que se trata de un procedimiento mucho menos traumático para el donador, sin embargo, su uso sigue siendo cuestionado debido a la posibilidad de efectos negativos de la inducción con factores estimulante del crecimiento celular.

En todos los casos anteriores, el HLA desempeña un papel básico en el uso de estas células. Los genes principales implicados en la histocompatibilidad de los TCM son los HLA-A, -B y -C de la clase I, y los genes HLA-DR, -DQ, y -DP, de la clase II. Su importancia radica, como se indicó previamente, en el papel que desempeñan estos en el reconocimiento de lo propio y en la patogénesis del rechazo al trasplante, y de la enfermedad injerto versus huésped, dos de los más importantes problemas que rodean los TCM y que influyen en la mortalidad relacionada con el trasplante. Asimismo, su alto polimorfismo exige niveles de tipificación y compatibilidad mayores para aumentar las probabilidades de éxito.

EL HLA y otras aplicaciones

La tipificación del complejo HLA tiene un papel fundamental en usos diversos, como la identificación de individuos o pruebas de paternidad, estudios étnicos, o la asociación entre tipos específicos de estos genes y ciertas enfermedades.

Por el papel central del HLA en la respuesta inmune del organismo, desde hace mucho tiempo se ha asociado con enfermedades, y varias de estas incluyen un componente inmunológico relevante. Se trata de enfermedades donde el HLA sería una de las características que harían al individuo desarrollar, por ejemplo, autoinmunidad. Entre las enfermedades con asociaciones más claras entre el tipo HLA y la patología están: la narcolepsia asociada a los HLA-DQB1*0602 y HLA-DRB1*1501, la espondilitis anquilosante asociada al HLA-B27, la enfermedad celíaca asociada al HLA-DQB1*02, la artritis reumática asociada al llamado “epitopo compartido” de las cadenas DRβ1 en el HLA-DR4 y -DR1, la *diabetes mellitus* tipo 1 en heterocigotos para HLA-DR3,4 y con ausencia del aminoácido Asn57 en DQβ1, y la hemocromatosis hereditaria cuyo gen mutado, el HFE, es una molécula con semejanza al HLA-H.^{6,13} De igual manera, se ha sugerido la asociación, tanto positiva como negativa, entre frecuencias alélicas y haplotípicas del HLA-II y ciertas malignidades hematológicas, como la leucemia mielocítica crónica.¹⁴

Tipificación del HLA

El desarrollo de las técnicas para tipificar el sistema HLA de un individuo ha sido paralelo al avance en las terapias por trasplante, en razón de la importancia de este sistema en la mayoría de los trasplantes. Los requerimientos de una compatibilidad prácticamente total entre donante y

receptor, en el caso de los trasplantes de médula ósea, han provocado que la resolución con la cual se tipifica el HLA vaya siendo cada vez mayor. Muchas investigaciones respaldan el impacto positivo de las técnicas de alta resolución sobre el desenlace de los TCM.¹⁵⁻¹⁸

Las técnicas de tipificación han evolucionado desde la baja resolución hasta la alta resolución, y de la serología a técnicas basadas en caracterización en el nivel del ADN. Las primeras técnicas moleculares disponibles aparecieron en 1991 y 1992 para HLA-DRB1 y -DQB1, mientras que los métodos para HLA-C aparecieron en 2000.¹⁹ En la última década, en los países desarrollados se han sustituido las técnicas basadas en reacciones inmunológicas, para dar paso al uso casi exclusivo del ADN. Desafortunadamente, en Costa Rica las técnicas serológicas siguen siendo las que están disponibles, y tan solo dos de los hospitales que efectúan TCM disponen de reactivos y equipo de laboratorio para realizar tipificaciones por medio de técnicas moleculares.

Los métodos basados en serología corresponden generalmente a metodologías de microlinfocitotoxicidad dependiente de complemento. Estas técnicas poseen la ventaja de ser el método más rápido para encontrar una identidad en el nivel del HLA en un grupo familiar. Sin embargo, como ya se mencionó, la serología no distingue diferencias potencialmente funcionales, debido a que existen grupos alélicos genéticamente diferentes que poseen una reacción cruzada en estas técnicas.^{20,21} Además, en el caso del HLA de clase II, es necesario lograr una separación de los linfocitos B de la muestra del paciente, procedimiento tedioso y con un bajo rendimiento, que compromete la interpretación de las pruebas. Otras técnicas de compatibilidad, según la HLA clase II, como el cultivo mixto de linfocitos, no se aplican de rutina en los laboratorios clínicos, por su laboriosidad, y son empleadas generalmente en investigación.³

Por su parte, las técnicas basadas en la caracterización del HLA en el nivel del genoma, se dividen en tres grandes grupos: sondas de oligonucleótidos secuencia-específicos, cebadores secuencia-específicos y secuenciación genética.

Las ventajas de estas técnicas son muchas, entre ellas, que requieren una muy pequeña cantidad de muestra, no precisan células viables para realizar la tipificación, los reactivos utilizados son fácilmente renovables, resulta fácil su automatización, y sus resultados son más exactos y detallados, dependiendo del grado de resolución que se utilice.^{2,3} La principal desventaja de los métodos por ADN es el mayor costo de los equipos y reactivos para llevarlos a cabo.

En el caso de las técnicas por oligonucleótidos específicos, su principio se basa en una amplificación previa de la región de HLA por PCR. Posteriormente, se realiza una incubación e hibridización de los productos de PCR para cada locus con sondas preformadas polimórficas, correspondientes a las distintas especificidades moleculares del HLA. Los resultados

pueden ser revelados por medio de técnicas de fluorescencia o bandas coloreadas. La técnica es adecuada para un procesamiento masivo de muestras. La amplificación por PCR tiene lugar para los exones 2 y 3 ($\alpha 1-2$) de los genes de clase I, y para el exón 2, correspondiente a los extremos amino-terminales de las cadenas de clase II.¹

Por otra parte, las técnicas de cebadores específicos se basan en el hecho de poseer una batería de estos para grupos o secuencias específicas de uno o más alelos de los genes del HLA. La evaluación de los resultados se desarrolla por medio de la revelación de un gel donde los productos de la PCR específica son separados. Así, es posible interpretar mediante el patrón de amplificación y el conocimiento de la especificidad de los cebadores de cada reacción llevada a cabo, la presencia de un grupo de alelos o un alelo específico.⁶

Finalmente, la tipificación basada en secuenciación es el mejor método para alta resolución de alelos muy cercanos en el nivel de su secuencia de nucleótidos. Se indica su uso sobre todo en fases finales de selección de un donante adecuado, y no en el procesamiento inicial masivo. Igualmente, las regiones secuenciadas corresponden a los exones 2 y 3 ($\alpha 1-2$) de los genes de clase I, y el exón 2 de las cadenas de clase II. Las ventajas de este método son, básicamente, su alta capacidad de resolver entre alelos muy emparentados y la capacidad de caracterizar alelos nuevos. Sin embargo, hay limitaciones con respecto a su interpretación en casos de heterocigidad.²²

Gran cantidad de investigaciones científicas^{20, 21, 23} han demostrado que el uso de técnicas serológicas para tipificar el HLA encubre diferencias entre donante y receptor, las cuales pueden tener una implicación funcional que el sistema inmunológico de ambos sí será capaz de reconocer. Esta situación conlleva un mayor riesgo de complicaciones y un bajo éxito del trasplante.

Para ilustrar lo anterior, Lee SJ, Klein J, Haagenson M colaboradores.²⁴ publicaron recientemente un amplio estudio con datos del Programa Nacional de Donantes de Médula de EEUU, acerca del efecto de la tipificación del HLA de alta resolución sobre los TCM de donantes no relacionados (TCM-DNR). En dicha investigación se evaluó el desenlace de 3857 TCM-DNR, y se encontró que la máxima supervivencia de los pacientes se obtiene con una compatibilidad 8/8 en HLA-A, -B, -C y DRB1. Además, se identificó que las incompatibilidades peor toleradas son las que se producen en HLA-A y -DRB1, mientras que las de HLA-DQ y -DP no parecen estar relacionadas con la supervivencia de estos pacientes, a pesar de varios informes que indican un papel importante del -DPB1 en el desenlace del trasplante.^{25, 26} Asimismo, los investigadores encontraron que cada incompatibilidad en el nivel de alta resolución en la tipificación de HLA (un 7/8), reduce entre un 8% y un 12%, las probabilidades de supervivencia a 5 años de los pacientes sometidos al trasplante.

Actualmente, las instituciones internacionales relacionadas con los trasplantes de células madre hematopoyéticas, recomiendan que se favorezca el uso de técnicas de ADN para la tipificación del HLA, pero no descartan el uso de las técnicas serológicas, pues las consideran un complemento adecuado a las técnicas moleculares, en particular para ayudar a distinguir alelos nulos y alelos de baja expresión de otros alelos, diferencia que conlleva importantes implicaciones en la inmunología del trasplante.²⁷ Para el caso de los TCM-DNR, se considera como mínima la tipificación molecular del HLA-A, -B, -C y -DRB1, mientras que la tipificación molecular del HLA-DRB3, 4, 5 y DQB1, resulta deseable debido a su asociación con el HLA-DRB1, lo que aumenta las probabilidades de encontrar un donador compatible. La caracterización del HLA-DPB1 se considera opcional. Idealmente, los HLA-A, -B y DRB1 deben ser tipificados en el nivel de alta resolución, es decir, distinguiendo alelos, y la tipificación de pacientes y donantes debe efectuarse con dos muestras distintas de cada uno, para confirmar los resultados.²⁸ En el caso de los trasplantes de unidades de cordón umbilical, los requerimientos de compatibilidad son menores,²⁹ dependiendo también en gran medida, de la dosis celular de la unidad, e inclusive se ha cuestionado la utilidad de las técnicas de alta resolución en este tipo de trasplantes.³⁰

En los casos en los que no se dispone de un donante no relacionado totalmente compatible, se ha determinado que el efecto deletéreo de una incompatibilidad en un locus específico depende no solo de cuál sea el locus involucrado, sino también del riesgo asociado a la enfermedad en cuestión.³¹

El HLA y los bancos de donantes de células madre

La información obtenida al caracterizar el HLA de donantes está lejos de servir únicamente para el caso de un paciente específico, pues la tendencia mundial, desde hace ya bastantes años, se dirige a la conservación de estos datos en los llamados bancos o registros de donantes de células madre, los cuales se valen de algoritmos de búsqueda, según la tipificación del HLA para encontrar donadores compatibles con el paciente.³² La mayoría de los países desarrollados posee uno o más bancos nacionales de donantes de células, y estos son a su vez integrados en un sistema internacional de intercambio de donantes, el cual brinda servicio y ofrece una mayor probabilidad de encontrar un donante compatible con un paciente en distintos países.

El primer banco de donantes de células madre hematopoyéticas, el Anthony Nolan Trust en el Reino Unido, apareció en la década del 70 y actualmente es uno de los más grandes del mundo, con poco menos de 400 000 donantes registrados. A partir de este hito, han surgido iniciativas similares alrededor del mundo,³³ posicionándose el banco nacional estadounidense, el registro del National Marrow Donor Program, como el más grande del mundo, con alrededor de 5 millones de donantes.

La red mundial del Bone Marrow Donors Worldwide agrupa a la mayoría de los bancos. Al momento de esta revisión, la red registraba un total de 13 193 706 donantes y unidades de sangre de cordón umbilical.³⁴ En el nivel latinoamericano solo aparecen registrados 3 bancos: los de México, Argentina, y Uruguay, y, de hecho, únicamente alrededor de 800 000 donantes están registrados fuera de América del Norte y Europa, y menos del 1% de los donantes y unidades de sangre de cordón umbilical se encuentra en América del Sur,³⁵ lo que evidencia la necesidad de promover estas iniciativas en los distintos países. Cabe resaltar que Brasil posee un registro nacional de donantes de médula ósea con más de 50 000 personas registradas.³⁶

Pero, ¿cuál es el interés en poseer un registro de donantes? El hecho de tener un sistema de banco de donantes basado en la tipificación molecular del HLA de estos, representa una alternativa a la búsqueda de donantes compatibles en el núcleo familiar del paciente. Como se mencionó, solo el 30% de los pacientes que necesitan un TCM encontrarán un familiar compatible, por lo que la esperanza de la mayoría reside en los donantes voluntarios no relacionados. El aspecto del tiempo de respuesta es fundamental. Tomando en cuenta que muchos de los pacientes para los cuales se indica un TCM no disponen de tiempo debido al estado o la agresividad de sus enfermedades de fondo, la disponibilidad de datos previos acerca de la compatibilidad posible entre el paciente y un individuo no relacionado, es vital. De hecho, al seleccionar un grupo de donantes del banco compatibles con cada paciente, puede emplearse el tiempo disponible en una mejor selección del donador indicado, de acuerdo con otros parámetros aparte del HLA.

Cabe resaltar que la disponibilidad de bancos de donantes de cada país contribuye grandemente a la probabilidad de encontrar un donante compatible, dado que se trata de la población de origen del paciente, la cual en general comparte orígenes étnicos comunes. De igual manera, los donantes de determinado país podrían aumentar la probabilidad de éxito de un paciente perteneciente a una minoría en otro país. Así, el Banco de Donantes de Células Madre Surafricano proporciona donadores para pacientes negros de EEUU.³⁷

Por otro lado, la información acerca del HLA recogida en los bancos de donantes es, aparte de una alternativa terapéutica, una valiosísima base de datos para estudios en ciencias biomédicas e inclusive en ciencias sociales. En numerosas investigaciones las asociaciones de diferentes alelos o haplotipos con patologías han podido ser identificadas, y las frecuencias alélicas y genotípicas de estos *loci* ayudan a comprender cuestiones antropológicas, como las migraciones y los orígenes de determinadas poblaciones humanas. Y este conjunto de información es un semillero de nuevas investigaciones científicas para un país.

HLA y TCM, retos para Costa Rica

Como se ha visto, la tipificación del HLA debe ir de la mano con el desarrollo de un programa de trasplantes de células madre hematopoyéticas, siendo imposible el avance de este último, sin la mejora de la primera. En el país existen varios programas de TCM e inclusive un proyecto para la creación de un banco de unidades de sangre de cordón umbilical público, sin embargo, la tipificación molecular del HLA sigue siendo en gran medida realizada con técnicas ya superadas en los países desarrollados.

Consecuentemente, la inversión en cuanto a la calidad de estos procedimientos es necesaria en varios niveles. En primera instancia, debería promoverse la creación de un laboratorio nacional para la tipificación molecular del HLA. Este laboratorio debería centralizar los procedimientos ofreciendo servicio a los distintos programas de trasplante nacionales, y servir como base para un registro nacional de donantes. Evidentemente, este laboratorio debe acondicionarse con equipos y reactivos para determinar el HLA en el nivel del ADN, conforme los requerimientos internacionales, y con programas de calidad como los aplicados en otros países.³⁸

El siguiente reto sería la integración de este registro nacional a las redes internacionales de donantes, para beneficio de pacientes nacionales y extranjeros. Tal integración supone lógicamente el adherirse a lo que se requiere en cuanto a procedimientos, niveles de resolución de la tipificación y demás especificaciones que siguen los registros en el nivel mundial.

Asimismo, el sistema nacional de trasplantes debería darse a la tarea de promover vehementemente la donación voluntaria de células madre hematopoyéticas y el registro de donantes en la población nacional. Es bien sabido que los registros de donantes necesitan un flujo constante de nuevos voluntarios para contrarrestar la salida de donantes por diversas causas, así como el envejecimiento de los voluntarios ya registrados y la consecuente pérdida de eficiencia de la base de datos.³⁹ De igual manera, el registro nacional debe buscar una buena representatividad de la población, que favorezca la diversidad genética de la base de datos, incluyendo donadores de todos los grupos étnicos y minorías, y su información debería servir para obtener un perfil genético, a fin de mejorar los conocimientos al respecto. Paralelamente, existen maneras de calcular la eficacia de un registro de donantes de células madre, según la probabilidad de una cierta cantidad de pacientes, de encontrar al menos un donador no relacionado compatible en registros de distinto tamaño, a partir de la diversidad genética de la población meta.^{40,41} Partiendo de este tipo de estudios es posible estimar el tamaño requerido para un buen desempeño del registro para esa población.

Conclusiones

Como se ha presentado, la diversidad genética del sistema del HLA es un factor determinante en el desempeño de los trasplantes, en especial de los de progenitores hematopoyéticos. El reto que refiere la compatibilidad donador-receptor, ha impulsado el desarrollo de las técnicas de tipificación del HLA, enfocándose en las metodologías moleculares y definiendo con gran resolución los alelos de cada individuo involucrado. Este es un desarrollo que desgraciadamente no se ha producido aun en el país, en principio por el costo económico de las técnicas. Pero, es un paso ineludible que el sistema de salud debe dar si se desea continuar y mejorar los programas de trasplante nacionales. La inversión, primero en la mejora de las tipificaciones del HLA y luego en la creación de un laboratorio nacional de histocompatibilidad, debe llegar tanto de la Seguridad Social nacional, como de las fundaciones interesadas, tal y como funciona en otros países.

Un desarrollo paralelo lo constituye el registro nacional de donantes de médula ósea, que debería ofrecer una oportunidad a la gran proporción de pacientes que necesitan un TCM y que no poseen un donador compatible en sus familias. Constantemente, en el país se presenta el caso de un paciente en dichas condiciones, lo cual le resta opciones para su curación y supervivencia. Asimismo, la integración de este banco a los sistemas internacionales de registro de donantes es otro elemento que debe ser subsanado para beneficio de los pacientes.

Finalmente, ha de hacerse conciencia en las autoridades de salud nacionales, sobre el hecho de que las terapias celulares constituyen una buena porción del futuro de la medicina y, por ende, el país no debe mantenerse al margen de esto, sino más bien, apurar esfuerzos para seguir liderando la Región y manteniéndose al día y en el camino de desarrollar más y mejores programas de trasplante de células madre, sin descuidar los requerimientos paralelos mencionados.

Referencias

1. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. 6th Ed. México: Mosby, 2001.
2. Choo SY. The HLA system: genetics, immunology, clinical testing, and clinical implications. *Yonsei Med J.* 2007; 48:11-23.
3. Reisner EG Human leukocyte and platelet antigens. en Beutler E, Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ editores. *Williams Haematology.* 5th ed México: McGraw-Hill Inc, 1995: 1611-17.
4. Contreras M, Lubenko A Antigens in human Blood. en Hoffbrand AV, Lewis SM editores. *Postgraduate Haematology.* 3rd ed. Butterworth Heinemann, 1992: 261-5.
5. Yan WH, Lin AF. Current opinion on human leukocyte antigen-G in China. *Chin Med J (Engl).* 2007; 120:1260-5.
6. Anthony Nolan Research Institute. En <http://www.anthonynolan.org.uk/research/hlainformaticsgroup/>. Recuperado el 5 de febrero de 2009.
7. Ji Y, Sun JL, Du KM, Xie JH, Ji YH, Yang JH, et al. Identification of a novel HLA-A*0278 allele in a Chinese family. *Tissue Antigens.* 2005;65:564-6.
8. Tang TF, Hou L, Tu B, Hwang WY, Yeoh AE, Ng J, et al. Identification of nine new HLA class I alleles in volunteers from the Singapore stem cell donor registries. *Tissue Antigens.* 2006;68:518-20.
9. Kanga U, Panigrahi A, Kumar S, Mehra NK. Asian Indian donor marrow registry: All India Institute of Medical Sciences experience. *Transplant Proc.* 2007; 39:719-20.
10. Abdeen H, McErlean C, Moraes ME, Torres M, Campiotto S, Galvão S, et al. Identification of three novel alleles of HLA-DRB1 and HLA-A in the Brazilian population. *Tissue Antigens.* 2007;69:607-10.
11. Madrigal A, Shaw BE. Immunogenetic factors in donors and patients that affect the outcome of hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Cells Mol Dis.* 2008; 40:40-3.
12. Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, et al. Acute Leukemia Working Party of European Blood and Marrow Transplant Group; Eurocord-Netcord Registry. Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med.* 2004; 351:2276-85.
13. van der Helm-van Mil AHM, Verpoort KN, Breedveld FC, Huizinga TWJ, Toes REM, de Vries RRP. The HLA-DRB1 shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism.* 2006; 54:1117-21.
14. Amirzargar AA, Khosravi F, Dianat SS, Alimoghadam K, Ghavamzadeh F, Ansari-pour B, et al. Association of HLA class II allele and haplotype frequencies with chronic myelogenous leukemia and age-at-onset of the disease. *Pathol Oncol Res.* 2007; 13:47-51.
15. Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D, Fernandez-Vina M, Filipovich A, Horowitz M, et al. Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood.* 2004; 104:1923-30.
16. Petersdorf E, Smith AG. High resolution donor HLA-matching: saving lives. *CIBMTR Newsletter.* 2006; 12:1-4.
17. Maury S, Balère-Appert ML, Chir Z, Boiron JM, Galambrun C, Yakouben K, et al. French Society of Bone Marrow Transplantation and Cellular Therapy (SFGM-TC). Unrelated stem cell transplantation for severe acquired aplastic anemia: improved outcome in the era of high-resolution HLA matching between donor and recipient. *Hematologica.* 2007; 92:589-96.
18. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood.* 2007; 110:4576-83.
19. Petersdorf EW, Anasetti C, Martin PJ, Gooley T, Radich J, Malkki M, et al. Limits of HLA mismatching in unrelated hematopoietic cell transplantation. *Blood.* 2004; 104:2976-80.
20. Scott I, O'Shea J, Bunce M, Tiercy JM, Argüello JR, Firman H, et al. Molecular typing shows a high level of HLA class I incompatibility in serologically well matched donor/patient pairs: implications for unrelated bone marrow donor selection. *Blood.* 1998; 92:4864-71.
21. Prasad VK, Kernan NA, Heller G, O'Reilly RJ, Yang SY. DNA typing for HLA-A and HLA-B identifies disparities between patients and unrelated donors matched by HLA-A and HLA-B serology and HLA-DRB1. *Blood.* 1999; 93:399-409.
22. Shankarkumar U, Pawar A, Ghosh K. Implications of HLA sequence-based typing in transplantation. *J Postgrad Med.* 2008; 54:41-4.
23. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, et al. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood.* 2002; 99:4200-6.

24. Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, Confer DL, Eapen M, et al. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood*. 2007; 110:4576-83.
25. Shaw BE, Marsh SG, Mayor NP, Russell NH, Madrigal JA. HLA-DPB1 matching status has significant implications for recipients of unrelated donor stem cell transplants. *Blood*. 2006; 107:1220-6.
26. Shaw BE, Gooley TA, Malkki M, Madrigal JA, Begovich AB, Horowitz MM, et al. The importance of HLA-DPB1 in unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Blood*. 2007; 110:4560-6.
27. Smith A. HLA Expression Variant Alleles. Question corner, *ASHI Quarterly*, 25(2), 2001.
28. Hurley CK, Baxter-Lowe LA, Logan B, Karanes C, Anasetti C, Weisdorf D, et al. National Marrow Donor Program HLA-matching guidelines for unrelated marrow transplants. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2003; 9:610-5.
29. Kamani N, Spellman S, Hurley CK, Barker JN, Smith FO, Oudshoorn M, et al. National Marrow Donor Program. State of the art review: HLA matching and outcome of unrelated donor umbilical cord blood transplants. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14:1-6.
30. Liao C, Wu JY, Xu ZP, Li Y, Yang X, Chen JS, et al. Indiscernible benefit of high-resolution HLA typing in improving long-term clinical outcome of unrelated umbilical cord blood transplant. *Bone Marrow Transplant*. 2007; 40:201-8.
31. Petersdorf EW, Gooley T, Malkki M, Horowitz M; for The International Histocompatibility Working Group in Hematopoietic Cell Transplantation. Clinical significance of donor-recipient HLA matching on survival after myeloablative hematopoietic cell transplantation from unrelated donors. *Tissue Antigens*. 2007;69 (Suppl) 1:25-30.
32. Hurley CK, Maiers M, Marsh SG, Oudshoorn M. Overview of registries, HLA typing and diversity, and search algorithms. *Tissue Antigens*. 2007;69 (Suppl) 1:3-5.
33. Rojas Montero GM, Alvarez López MR, López Bermejo A, Moya Quiles MR, Muro Amador M. Descriptive study of activity of the bone marrow donor registry and bank from the Murcia Region (southeast of Spain) (1994-2004). *An Med Interna*. 2006; 23:525-8.
34. Bone Marrow Donors Worldwide. En http://www.bmdw.org/index.php?id=number_donors0. Recuperado el 23 de junio de 2009.
35. Oudshoorn M, van Walraven SM, Bakker JN, Lie JL, V D Zanden HG, Heemskerk MB, et al. Hematopoietic stem cell donor selection: the Eurodonor experience. *Hum Immunol*. 2006; 67:405-12.
36. Moraes JR, Alencar IS, Moraes ME, Pereira NF, Pasquini R, Tabak DG. Almost 50,000 volunteers participate at Redome, the Brazilian Bone Marrow Donor Registry. *Transplant Proc*. 2004; 36:814-5.
37. du Toit ED, Borrill V, Schlaphoff TE. The South African bone marrow registry (SABMR) in 2004. *Transfus Apher Sci*. 2005; 32:25-6.
38. Tiercy JM, Stadelmann S, Chapuis B, Gratwohl A, Schanz U, Seger RA, et al. Quality control of a national bone marrow donor registry: results of a pilot study and proposal for a standardized approach. *Bone Marrow Transplant*. 2003; 32:623-7.
39. Schmidt AH, Biesinger L, Baier D, Harf P, Rutt C. Aging of registered stem cell donors: implications for donor recruitment. *Bone Marrow Transplant*. 2008; 41: 605-12.
40. Vojvodić S, Popović SL. Predictive calculation of effectiveness of a regional bone marrow donor registry in Vojvodina, Serbia. *Coll Antropol*. 2007; 31: 579-86.
41. Kollman C, Abella E, Baitty RL, Beatty PG, Chakraborty R, Christiansen CL, et al. Assessment of optimal size and composition of the U.S. National Registry of hematopoietic stem cell donors. *Transplantation*. 2004; 78:89-95.