

Descripción de Información Genética de Donantes de Médula Ósea

Diego Rodríguez

drogra@adinet.com.uy

Docentes : Dra. Milka Bengoechea ,Ing. Franco Simini ,Daniel Geido ,Rapahael Carvalho
Montevideo, Uruguay, diciembre, 2004

Resumen: *Este trabajo tiene como objetivo mostrar la forma de codificar los datos de pacientes donantes de médula ósea para su envío a organismos internacionales. Se presenta una breve reseña del sistema HLA y su tipificación. Así como también los programas de donantes de médula ósea existentes dentro de los cuales se destacan la NMDP y la BMDW con sus respectivas formas de obtención de datos.*

Palabras claves: *antígenos, células, compatibilidad, locas tipificación, trasplante..*

I. INTRODUCCION

Las células progenitoras hematopoyéticas son aquellas células a partir de las que derivarán todas las células sanguíneas (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas). Estas células se producen en el adulto sano en la médula ósea, pero pueden ser detectados en pequeña proporción en la sangre periférica (la sangre que circula en las venas y las arterias).

Todos los años, miles de personas desarrollan una enfermedad grave de médula ósea o nacen con alteraciones genéticas de la misma que comprometen su vida. Para ellos, la única vía de curación pasa por un trasplante de estas células procedentes de un donante sano. Este donante se busca habitualmente entre los hermanos del paciente, pero, lamentablemente, sólo en un 30-40 % de los casos se encuentra un familiar compatible.

Cuando el paciente necesita un trasplante de estas características y no se dispone de un donante familiar, compatible, cabe recurrir a los Registros de Donantes voluntarios de Médula Ósea que funcionan desde hace años en diferentes países del mundo.

Los criterios y procedimientos de selección de donantes no emparentados están establecidos a nivel internacional por criterios inmunogenéticos, periódicamente revisados. Se considera donante no emparentado ideal al que posee los mismos alelos HLA que el paciente en los loci A, B y DRB1.

Se entiende por alelo la definición que ofrece el estudio de ADN alta resolución. La célula troncal hematopoyética o *stem cell* tiene la capacidad de autorrenovarse y diferenciarse en células progenitoras hematopoyéticas.

Los progenitores hematopoyéticos pueden obtenerse de las siguientes fuentes:

- médula ósea
- sangre periférica movilizada (PHSP)
- sangre de cordón umbilical (SCU).

Aunque la médula ósea ha sido durante años la fuente principal de obtención de los progenitores, recientemente se están empleando cada vez más las células progenitoras procedentes de la sangre periférica y sangre de cordón umbilical.

Ontogénicamente, la hematopoyesis se inicia en el saco vitelino entre los días 15 y 18 de desarrollo. A partir de la sexta semana de gestación se empieza a detectar en el parénquima hepático y en el bazo. Finalmente alrededor de la semana 20 se inicia la hematopoyesis a nivel de la médula ósea, donde permanecerá casi exclusivamente durante toda la vida adulta. Durante los cambios a nivel de órganos hematopoyéticos detectados durante las etapas embrionaria y fetal se produce un aumento de progenitores circulantes que indicaría una migración de las células progenitoras hematopoyéticas a través del torrente sanguíneo entre los diferentes lugares. Durante las primeras 24 horas después del nacimiento todavía se detectan precursores hematopoyéticos circulantes en sangre periférica que van declinando de forma progresiva. Por este motivo las células progenitoras y precursores hematopoyéticos contenidos en la sangre de cordón han sido consideradas una fuente alternativa de hemopoyesis en el tratamiento de ciertas enfermedades hematológicas.

El factor más crítico que influye en la evolución del trasplante de médula ósea es la compatibilidad genética de los loci HLA entre donante y receptor.

En los trasplantes con precursores hematopoyéticos cobran especial importancia otros factores como:

- el número de células progenitoras
- la capacidad proliferativa de las células progenitoras
- capacidad de expansión "ex - vivo" de las células progenitoras hematopoyéticas.

II. SISTEMA HLA Y COMPATIBILIDAD

A. Sistema HLA

De la misma forma que en una transfusión de sangre el donante y el receptor necesitan ser compatibles en el grupo sanguíneo del Sistema ABO, en un trasplante de órganos o de médula ósea, ambos necesitan ser compatibles en el **Sistema HLA**, o de **Antígenos Leucocitarios Humanos** (sigla en inglés: HLA).

Los **Antígenos Leucocitarios Humanos - HLA** son moléculas que se encuentran en los glóbulos blancos (o leucocitos) de la sangre y en la superficie de casi todas las células de los tejidos de un individuo. Cumplen con la función de reconocer lo propio y lo ajeno y aseguran la respuesta inmune, capaz de defender al organismo de algunos agentes extraños que generan infecciones.

Ese conjunto de moléculas y las formas en que son transmitidas de padres a hijos constituyen un Sistema también denominado de Histocompatibilidad (de histo = tejido) o de Individualidad (lo propio y lo ajeno). Su descubrimiento ha permitido a la medicina dar un salto cualitativo en las posibilidades de éxito de un trasplante.

El trasplante como tratamiento de ciertas enfermedades es relativamente reciente. Los primeros se efectuaron en los años sesenta, abriendo un camino prometedor cuyo gran escollo fue el rechazo. Recién después, en la década de los setenta, descubierto el Sistema HLA, se puede comprender mejor el fenómeno del rechazo y de la enfermedad del injerto contra el receptor, y trasplantar con menos inconvenientes, según criterios de compatibilidad.

Existen “lugares estratégicos” en el Sistema HLA que sirven para examinar si una persona puede ser compatible con otra en caso de injerto: HLA-A, HL A-B, HLA-C, HLA-DR y HLA-DQ.

El tipo de molécula - antígeno - presente en **A, B, C, DR, y DQ**, es lo que determina la posibilidad de aceptación del tejido (órgano o médula ósea) de un donante por el organismo de un receptor.

Para que dos personas sean compatibles los antígenos presentes en cada uno de esos lugares deben ser idénticos o tener ciertas coincidencias.

Esto se detecta a través de un análisis de sangre en el que la muestra es sometida a varias técnicas de laboratorio y puede incluir el análisis de ácido desoxirribonucleico, corrientemente designado como ADN.

Los antígenos se identifican por un número y pueden ser enormemente variados. Se conocen más de 300 para el lugar A, alrededor de 500 para B, más de 150 para C, 400 para DR y más de 50 para DQ. Como la investigación es permanente, esos números se acrecientan en forma constante.

Si prestamos atención a esta gran cantidad de variedades, podemos hacernos una idea del alto número de combinaciones que son posibles; y, por lo tanto lo difícil que resulta que ellas sean coincidentes.

El ADN es el material genético (hereditario) transmitido de padres a hijos. Se encuentra en el cromosoma del núcleo de las células de todo el organismo, incluidos los glóbulos blancos y las plaquetas de la sangre. Está químicamente constituido por un encadenamiento de elementos básicos que se podrían comparar con las letras de un alfabeto. Esos elementos básicos o letras químicas se combinan en palabras que constituyen un texto organizado que transmite un mensaje. En ese texto se pueden reconocer diferentes partes o secciones denominadas genes.

El ADN se hereda de los padres en una combinación que es peculiar para cada hijo. Los genes del Sistema HLA se transmiten siempre en bloque. Cada bloque se denomina haplotipo. El padre aporta un haplotipo (= mitad del genotipo) y la madre otro, dando origen al genotipo HLA, perfil genético propio del nuevo ser.

Es este perfil - o “huella genética” - el que debe coincidir en los “lugares estratégicos” para que dos tejidos se acepten.

B. Transmisión del material genético

En el Sistema HLA el material genético se transmite de padres a hijos según lo explica el esquema que se muestra a continuación:

Sistema HLA			
Padre		Madre	
Haplotipo a	Haplotipo b	Haplotipo c	Haplotipo d
Hijos			
Combinación 1	Combinación 2	Combinación 3	Combinación 4
Genotipo a-c	Genotipo a-d	Genotipo b-c	Genotipo b-d

Los hijos podrán heredar cualquiera de estas cuatro combinaciones del material genético transferido por los padres. Lo que heredara cada uno depende del azar. Existen 50% de posibilidades de que 2 hermanos compartan un solo haplotipo, 25% de posibilidades de que no compartan ninguno y 25% de que coincidan en ambos haplotipos.

Las personas con genotipo **a-c; a-d; b-c; b-d** descienden de progenitores que aportan los haplotipos **a** y **b**, por un lado, y **c** y **d**, por otro, ya que un individuo está siempre constituido por material genético proveniente de los seres que le dieron vida.

Cualquiera de las cuatro combinaciones posibles indica que ese ser proviene de los mismos padres.

Pero sólo ciertas coincidencias en la combinación heredada hacen que un hermano sea compatible con otro dentro del Sistema HLA. Según el tipo de trasplante, receptor y donante deberán compartir uno o dos haplotipos.

C. Tipificación HLA

La tipificación HLA es un análisis complejo que permite identificar y comparar receptores y donantes en Sistema HLA, y determinar la compatibilidad - o no - de sus perfiles (para un trasplante).

La tipificación nos permite establecer qué posibilidades tiene una persona de socorrer a otra, en base a la donación de un órgano o de algunos centímetros cúbicos de su médula ósea y es un dato de suma importancia para el médico tratante quién debe evaluar la posibilidad de encarar un trasplante así como sus posibilidades de éxito.

III. NMDP

El Programa Nacional de Donantes de Médula Ósea Médula Ósea (NMDP), creado en 1986, es una organización sin fines de lucro que facilita los trasplantes de médula ósea entre pacientes y donantes voluntarios compatibles que no son familiares. El NMDP lleva un Registro de 4 millones de donantes voluntarios y ofrece servicios a pacientes, al tiempo que realiza investigaciones para fomentar el campo del trasplante de médula entre personas que no están emparentadas.

La red del NMDP incluye centros de donantes, grupos de reclutamiento, centros de recolección, centros de aféresis y centros de trasplantes. El NMDP también busca donantes potenciales a nivel internacional a través de asociaciones con más de 22 países de todo el mundo.

El NMDP facilita los trasplantes de médula ósea para pacientes que sufren enfermedades hematológicas mortales mediante el reclutamiento de donantes.

Para enviar datos debemos construir un archivo con las siguientes características:

- 1) Versión utilizada : hml version=0.2
- 2) Nombre de proyecto: project name="xxx"
- 3) Identificación del centro
Origen de los datos: reporting-center code="xxx"
center-code="xxx"
- 4) Identificación de los datos enviados : id="xxx-xxx-x"
- 5) Fecha con formato XYZ
Siendo X= año Y= mes Z= día : date =XYZ
- 6) Locus : haploid locus="x"
type="X"
Método (DNA O SEROLOGY): method="X"
- 7) Resultados del test sso y tests utilizado

Ejemplo :

Datos : Lab:999 Centro:123 Proyecto: ABR
NMDP ID:444-333-2 A*03CK , A*25AB

Código

```
<hml version="0.2">
<project name="ABDR">
<reporting-center code="999"/>
<sample id="444-333-2" center-code="123">
<hla-typing>
<interpretation date="20040123">
<haploid locus="A" method="DNA" type="03CK"/>
<haploid locus="A" method="DNA" type="25AB"/>
```

```
</interpretation>
<sso ref-id="A-probes" scores="1811"/>
</hla-typing>
</sample>
<typing-test-names ref-id="A-probes">
<typing-test-name name="L999.K1.V1.Aprobe1"/>
<typing-test-name name="L999.K1.V1.Aprobe2"/>
<typing-test-name name="L999.K1.V1.Aprobe3"/>
<typing-test-name name="L999.K1.V1.Aprobe4"/>
</typing-test-names>
</project>
</hml>
```

IV. BMDW

La BMDW lleva un Registro de donantes voluntarios al igual que la NMDP la diferencia radica en el tipo de archivo que se debe enviar con los datos. En este caso el documento será un archivo ASCII el cual se puede enviar por e-mail.

El documento ha enviar contiene dos líneas ,siendo la segunda de las misma opcional. Los correspondientes a la primera línea incluyen las tipificaciones hechas del sistema HLA, las cuales deben realizarse a nivel serológico. Además incluye un identificador con el código ASCII asignado a cada país y la numeración de la unidad enviada. Pudiéndose observar también datos sobre cordón umbilical (volumen y numero de células). La segunda línea contiene solamente secuencias tipificadas con el método DNA. El mismo finaliza indicando la cantidad de unidades enviadas, entendiéndose por unidad aquella que contiene todos los datos pertinentes a un mismo individuo. Los datos deben estar dispuestos en columnas y separados por un espacio en blanco.

Teniendo en cuenta esto podemos construir un archivo como el que se muestra a continuación.

A1	A2	B1	B2	D1	D2	ID	NVC	TNC	
1	2	35	51	13	17	CBID00001	60	1210	
3	11	45	76	15	17	CBID00002	65	1100	
1	2	51	3	8		CBID00003	70	1150	
DRB1*0301/0303/0306/0310							DRB1*0801/0802		
3	11	51	8	13		CBID00004	5	1130	
24	2403	66	71	1	18	CBID00005	60	1200	
DRB1*0101/0104							DRB1*0302/0303		

###5

V. CONCLUSIÓN

Se dispone de la tecnología necesaria para realizar las comunicaciones, a partir de las cuales los datos correspondientes a donantes uruguayos pasen a formar parte de las bases de datos internacionales.

REFERENCIAS

- [1] <http://www.nmdpresearch.org>
- [2] <http://www.anthonynolan.com>
- [3] <http://www.bmdw.org>
- [4] <http://www.marow.org>
- [5] <http://www.bnot.hc.edu.uy>
- [6] Emilio J.C Haas ,Luis Verrundo “El Sistema HLA”