

Representatividad de los genes HLA del estuche comercial LIFECODES QUIK-ID en la población cubana

1

Chang-Monteagudo A, Álvarez-Escalante G, Bencomo-Hernández A, Ustariz-García C, García-García MA, Marcell Rodríguez L, De la Guardia-Peña O, Rodríguez-Díaz E, Caraballo-Rivero N, Fernández-Leliebre M, Figueras-Suárez JP
Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.
Email: gae@iscmc.cmw.sld.cu

RESUMEN

Los anticuerpos reactivos al panel permiten estimar la probabilidad que tiene un receptor de encontrar un donante no relacionado compatible en una población dada, y para estimar correctamente esta probabilidad es necesario un método que contenga antígenos HLA representativos. Se realizó un estudio descriptivo transversal en el Departamento de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología de la Habana desde enero del 2013 hasta diciembre del 2016, con el objetivo de determinar si existen diferencias entre las frecuencias de los genes y haplotipos HLA de los individuos seleccionados para la confección del estuche comercial LIFECODES Quik-ID Class I y II de la firma GEN-PROBE para ELISA e individuos de la población cubana. Se utilizó una muestra no probabilística por criterios que incluyó 658 individuos de la población cubana. Se tipificaron 75 genes HLA mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa con cebadores de secuencia específica (PCR-SSP) de baja resolución. Para el análisis inmunogenético se empleó el programa Arlequín 3.5.2.2. En la presente investigación existieron diferencias estadísticamente significativas en 7 genes HLA. El gen A*33 ocupó el segundo lugar en frecuencia en los individuos del estuche comercial, mientras que en los cubanos el décimo; siendo esta diferencia estadísticamente significativa. El gen B*35 que ocupó el segundo lugar en la población cubana, representó el lugar catorce en el estuche; siendo estadísticamente significativo. Los genes B*54, B*59, B*67 solo están representados en la placa de ELISA. Los alelos DRB1*13 y DQB1*06 mostraron diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia, al igual que el haplotipo DQB1*06 DRB1*13. A pesar de que existen diferencias significativas en la frecuencia de algunos alelos, el estuche comercial

LIFECODES Quik-ID se puede emplear para la determinación del porcentaje de sensibilización; aunque se recomienda la implementación de un panel confeccionado con antígenos leucocitarios humanos obtenidos de individuos cubanos.

Palabras clave: genes HLA; tipificación HLA; inmunogenética; anticuerpos anti-HLA frente a panel; estuche comercial.

INTRODUCCIÓN

En Cuba se introdujo recientemente la técnica de determinación del PRA por ELISA. Se realizan cuatro ELISA de tipo heterogéneo, no competitivo, cualitativo e indirecto usando estuches comerciales. La identificación de especificidades y % PRA se realiza con los estuches: LIFECODES Quik-ID Class I para anticuerpos anti-HLA clase I y LIFECODES Quik-ID Class II para anti-HLA clase II.^[1]

El porcentaje del PRA ofrece el grado de sensibilización del paciente y depende de la composición del panel. La composición de antígenos del panel varía considerablemente con el uso de diferentes estuches comerciales disponibles o paneles celulares localmente obtenidos que a veces no representa la población de donantes potenciales.^[2]

En los países europeos y en Estados Unidos de Norteamérica, por la relativa homogeneidad étnica de su población, el mestizaje no constituye una tendencia importante. La distribución de los antígenos del sistema HLA entre la población europeoide y la negroide-australoides, tanto en sus sitios geográficos de origen como en los Estados Unidos de Norteamérica, no pueden extrapolarse mecánicamente a nuestra población en particular, ni a la latinoamericana en general. Esto se debe a que en Europa y África, y en Estados Unidos, existen límites más nítidos entre los grupos raciales de blancos y negros, lo que muestra una situación diferente al caso de Cuba, por ejemplo, donde existe el 40 % de mestizaje aproximadamente.^[3]

OBJETIVO

Determinar si existen diferencias entre las frecuencias de los genes y haplotipos HLA de los individuos seleccionados para la confección del estuche comercial LIFECODES Quik-ID Class I y II de la firma GEN-PROBE para ELISA e individuos de la población cubana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo transversal en el Departamento de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología de la Habana desde enero del 2013 hasta diciembre del 2016.

Universo: individuos sanos a los que se les realizó estudio de histocompatibilidad por ser posibles donantes de células progenitoras hematopoyéticas, donantes vivos o cadavéricos de riñón.

Muestra: se utilizó una muestra no probabilística por criterios que 658 individuos sanos a los que se les realizó estudio de histocompatibilidad en el periodo comprendido entre enero del 2013 y diciembre del 2016.

Variable utilizada: Tipificación HLA: Genes HLA en baja resolución, de los loci A, B, DRB1 y DQB1 registrados en la base de datos IMGT/HLA versión 3.16.0.07

Para la tipificación HLA se utilizó el método PCR-SSP con estuche comercial de baja resolución Olerup SSP® HLA-A-B-DR-DQ SSP lotes 43R y 65Y (Olerup, Alemania). Los informes de la tipificación molecular HLA se almacenaron en una base de datos de Microsoft Access 2010. La información se exportó a formato .arp a través del complemento para análisis genéticos de Excel 2010, GenAlEx versión 6.4.

Para los análisis inmunogenéticos se utilizó el programa Arlequin versión 3.5.2.2. Para la comparación de la frecuencia de genes y haplotipos entre los grupos se realizaron estimaciones puntuales y de los intervalos de confianza del odds ratio (OR) mediante el lenguaje R a través de la interfaz de desarrollo R Studio v0.99 con las funciones de la biblioteca “Compare group”. Sólo se tuvieron en cuenta las diferencias entre grupos cuando se determinó significación estadística y

además los valores del OR fueron mayores que 2 y menores que 0,5. En todos los casos se trabajó con un nivel de significación estadística de $p \leq 0,01$ y con intervalos de confianza del 99%.



RESULTADOS

El gen más frecuente del locus HLA-A entre los 21 genes HLA-A tipificados fue el A*02, tanto en los individuos cubanos como en los individuos del estuche comercial.

En el año 2007, Ferrer y cols realizaron la tipificación molecular HLA clase I por PCR-SSOP de 390 individuos cubanos divididos en blancos y mulatos, en esta investigación se obtuvo que para la población blanca también los genes HLA-A más frecuentes fueron A*02, A*03 y A*24 y para la no blanca, A*02, A*03 y A*30.⁴

En el presente estudio el gen A*33 ocupó el segundo lugar en frecuencia en los individuos del estuche comercial, y el décimo en los de la población cubana; siendo esta diferencia estadísticamente significativa, con OR de 3,36. El gen A*24 fue el quinto en el estuche y el segundo en la población cubana. Los genes A*01, A*03 y A*29 ocupan el tercer, cuarto y quinto lugar en orden de frecuencia en la población cubana, respectivamente.

El grupo del CIGB también informó en su estudio que el A*33 presentó una frecuencia en las personas no blancas que duplicó a de las blancas, sin embargo no encontró diferencias estadísticamente significativas para este gen entre las dos poblaciones.⁴

En la presente investigación los genes B*07, B*15, B*44 estuvieron entre los cinco más frecuentes entre los 32 genes del *locus* HLA-B tipificados en ambas poblaciones. El gen B*35 que ocupó el segundo lugar en orden de frecuencia en la población cubana, representó el lugar catorce en el estuche; siendo estadísticamente significativo, con un OR de 0,21.

Según el estudio del 2007, los genes HLA-B más frecuentes en la población blanca fueron el B*44, B*35 y B*15.⁴

Williams y cols, en su análisis de la distribución del HLA-B en la población de cinco continentes dividió el grupo poblacional cubano en caucásicos y mulatos, quedando los alelos HLA-B*44, B*07 y B*14 dentro de los más frecuentes en ambos grupos. En esta investigación también se

evidenció la expresión frecuente de los alelos B*35 y B*44 en los 8 grupos poblacionales de los cinco continentes.⁵

La heterogeneidad del alelo HLA-B*35 tiene importantes consecuencias en la compatibilidad de las parejas donante-receptor no relacionadas en el trasplante renal y de médula ósea.⁵

Se encontró que los genes B*54, B*59, B*67 están representados solo en la placa de ELISA. Existió diferencia estadísticamente significativamente en la frecuencia del alelo B*56.

Según Patel y cols., los alelos B*59 y B*67 son frecuentes en poblaciones de japoneses, chinos e inmigrantes chinos en USA; mientras que el alelo B*67 solo en chinos. En el resto de las poblaciones estudiadas: Inglaterra, Francia, Brasil, Portugal, India y Alemania las frecuencias de estos alelos fue cero.⁵

En un estudio inmunogenético realizado en individuos de cinco continentes, se incluyó un grupo de cubanos tampoco se encontraron los alelos B*54, B*59, B*67.⁵

Se encontró que el haplotipo A*02 B*15 fue el más frecuente en los individuos de estuche comercial, y ocupó el octavo lugar en los individuos cubanos. El haplotipo A*01 B*08 estuvo dentro de los cinco más frecuentes en ambas poblaciones. El haplotipo más frecuente en la población cubana el A*29 B*44 no está representado en el estuche comercial.

Los genes DRB1*04, DRB1*07 y DRB1*13 estuvieron dentro de los cinco más frecuentes en ambas poblaciones, sin embargo existió diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de DRB1*13. Hubo diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de los alelos DRB1*09 y DRB1*12.

Los genes DQB1*02 y DQB1*03 representaron el primer y segundo lugar respectivamente en orden de frecuencia en el estuche comercial, y segundo y primero en individuos cubanos. Los genes DQB1*04, DQB1*05 y DQB1*06 coincidieron en orden de frecuencia en ambas poblaciones. Hubo diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia del alelo DQB1*06.

El haplotipo DQB1*06 DRB1*13 fue el más frecuente en los individuos del estuche comercial, y ocupó el cuarto lugar en los individuos cubanos; siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Se encontraron diferencias en la frecuencia de siete genes, de los 75 genes HLA tipificados, y un haplotipo HLA entre individuos de la población cubana y los individuos seleccionados para la confección del estuche comercial LIFESCODES Quik-ID. En general el por ciento de genes HLA con diferencia significativa fue bajo, representando aproximadamente la décima parte. Esto conduce a la necesidad de verificar si estas diferencias tienen una traducción en el resultado de las pruebas cruzadas.

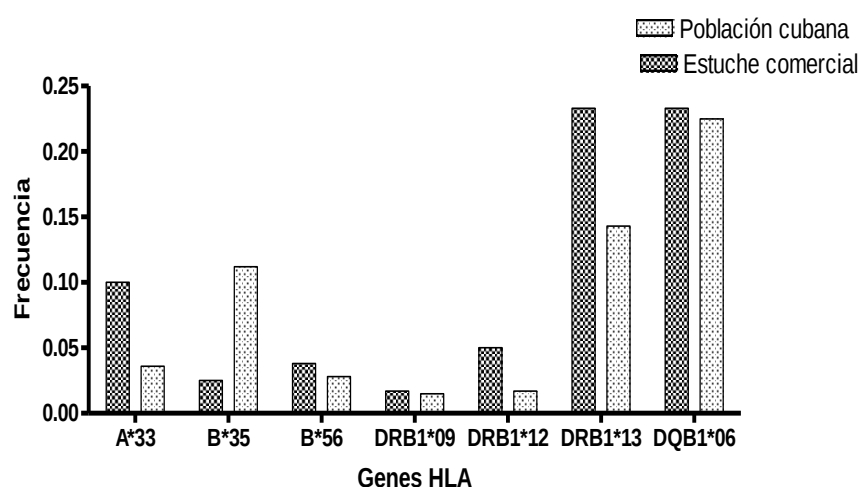


Figura. Frecuencia de los genes con diferencia estadísticamente significativa en la población cubana y el estuche comercial.

CONCLUSIONES

En el presente estudio a pesar que existieron siete diferencias significativas en la frecuencia de los genes HLA y un haplotipo HLA, el estuche comercial LIFECODES Quik-ID se puede emplear para la determinación del porcentaje de sensibilización.

El polimorfismo en los genes del sistema HLA en individuos sanos cubanos presenta características similares a las descritas en otras poblaciones del país.



RECOMENDACIONES

Implementar un panel confeccionado con antígenos leucocitarios humanos obtenidos de individuos cubanos.

Introducir la tecnología LUMINEX basada en dianas con antígenos aislados (para la determinación del PRA con mayor precisión).

BIBLIOGRAFÍA

1. Marcell Rodríguez L, Morera Barrios LM, Ustariz García CR, Costales Elizalde DT, Chang Monteagudo A, Bencomo Hernández A. Identificación de anticuerpos anti-HLA en pacientes en espera de trasplante renal. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2014; 31(2). Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/266/171>.
2. Ina JW, Roha EY, Shina S, Parka KU y Songa EY. Evaluation of Changes in New Calculated Panel Reactive Antibody Adopting HLA-Cw, DR51/52/53, and DQ Antigens in Koreans. Transplantation Proceedings [Internet]. 2016; 48: 766-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2015.12.124>
3. Morera-Barrios LM, Ustáriz-García C, García-García M, Hernández-Hernández A, Lam-Díaz RM, Guerreiro-Hernández A, et al. Frecuencia de antígenos HLA en la población cubana, según características étnicas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2005; 21(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892005000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
4. Ferrer A, Nazábala M, Companioni O. HLA class I polymorphism in the Cuban population. Hum Immunol. 2007; 68:918–27.

5. Patel JS, Patel MM, Koringa PG, Shah TM, Patel AK y Tripathi AK. Human leukocyte antigen alleles, genotypes and haplotypes frequencies in renal transplant donors and recipients from West Central India. Indian J Hum Genet. 2013; 19(2):219-32.