

QUIMERISMO MOLECULAR CUANTITATIVO PARA MONITOREO PRE Y POST TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EMPARENTADOS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS EN 100 DIAS POST TRASPLANTE

Luis Martín Cruz Díaz, Carla Méndez Chacón Rodríguez

martin.cruzd@gmail.com, carlame27@gmail.com

Laboratorio de Histocompatibilidad y Biología Molecular
Servicio de Patología Clínica - Instituto Nacional de Salud del Niño San Borja – Lima, Perú.

INTRODUCCION

El trasplante de progenitores hematopoyéticos es una terapia, dirigida a pacientes con distintas enfermedades hematológicas y oncohematológicas, el cual consiste en la infusión de células progenitoras hematopoyéticas de una persona sana, previa ablación en el individuo afectado. El prendimiento y éxito del trasplante está supeditado a distintas variables intrínsecas y extrínsecas, siendo el monitoreo molecular una herramienta de alta sensibilidad y especificidad. El quimerismo molecular cuantitativo permite la evaluación de perfiles genéticos del donante y receptor en distintos tiempos pos trasplante, su cuantificación está relacionado directamente a predecir la coexistencia de dos dotaciones genéticas. Se considera quimerismo molecular completo cuando se detecta sólo marcadores moleculares STR (short tandem repeat) provenientes del donante, quimerismo mixto cuando es posible cuantificar la carga genética del donante en relación a la del receptor y Fallo de injerto cuando la proporción de marcadores STR del donante está por debajo del 25% en relación al donante. Nuestrso objetivos fueron: Determinar los niveles de quimerismo molecular cuantitativo en pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos emparentados (idénticos y haploidénticos). Evaluar la dinámica de quimerismo molecular en el tiempo por tipo de paciente y trasplante

METODOLOGIA

Pacientes: Se analizaron 39 pacientes pediátricos con sus respectivos donantes y los sucesivos monitoreos según indicación de médico tratante:

Establecimiento de perfiles genéticos pre-trasplante: Se obtuvieron de todos los donantes, muestras de sangre periférica en EDTA, en la mayoría de los receptores, se tomaron muestras de sangre periférica y en algunos casos muestra de folículo piloso (aquellos receptores sometidos a transfusiones). Se utilizaron para el estudio, 24 marcadores microsatélites STR (short tandem repeats), amplificados por Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y evaluados por electroforesis capilar automatizada en analizador genético ABI 3500. El análisis de tamizaje de STR se realizó en software GeneMapper.

Establecimiento de perfil genético pos-trasplante: Se obtuvo muestra de sangre periférica del receptor en EDTA. Se utilizaron para el estudio, 24 marcadores microsatélites STR (short tandem repeats), amplificados por Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y evaluados por electroforesis capilar automatizada en analizador genético ABI 3500. El análisis de la discriminación de marcadores STR de donante y receptor se realizó en software GeneMapper y la cuantificación en ChimerTracker 1.0 según criterios de Kristt y colaboradores.

RESULTADOS

Interpretación: Se considera Quimerismo molecular completo a niveles mayores o iguales a 95% donante. Valores por debajo de 95% a 5% quimerismo molecular mixto. Niveles inferiores o iguales a 5% son considerados fallo de injerto.

Tabla N°01: Evaluación del Quimerismo molecular

	TOTAL	TX IDENTICO	TX HAPLOIDENTICO
QUIMERISMO COMPLETO			
ANEMIA APLASICA	24%	83%	17%
LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B	44%	73%	27%
LEUCEMIA AGUDA FENOTIPO MIXTO (MIELOIDE/B)	8%	50%	50%
OTROS ANEMIA FANCONI, LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA, SINDROME MIELODISPLÁSICO, TALASEMIA	24%	83%	17%

	TOTAL	TX IDENTICO	TX HAPLOIDENTICO
QUIMERISMO MIXTO			
ANEMIA APLASICA	50%	60%	20%
ANEMIA DE FANCONI	30%	66.6%	33%
LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B	10%	100%	0%
SINDROME DE WISKOTT-ALDRICH	10%	100%	0%
FALLO DE INJERTO			
ANEMIA APLASICA	50%	100%	0%
LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B	25%	100%	0%
LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA	25%	100%	0%

Tabla N°02: Dinámica de Monitoreo

	Condición a 100 días pos-trasplante	Regresión a Quimerismo Mixto	Regresión a Fallo de injerto
Quimerismo Total	100%	12%	0%
	Condición a 100 días pos-trasplante	Evolución a Quimerismo Completo	Regresión a Fallo de injerto
Quimerismo Mixto	90%	0%	10%
	Condición a 70 días pos-trasplante	Evolución a Quimerismo Mixto	Evolución a Quimerismo Completo
Fallo de injerto	100%	0%	0%

Tabla N°03: Quimerismo y Tipo de Trasplante

TIPO DE TRASPLANTE	% DE CASOS	QUIMERISMO MOLECULAR COMPLETO	QUIMERISMO MOLECULAR MIXTO
TRASPLANTE IDÉNTICO	77%	76%	24%
TRASPLANTE HAPLOIDENTICO	23%	80%	20%

CONCLUSIONES

En el presente estudio descriptivo se observa que en relación al diagnóstico clínico, el 80% de los pacientes con Anemia Aplásica y Fanconi presentaron quimerismo molecular mixto y ningún paciente evolucionó a quimerismo molecular completo. Por otro lado, el 36% de pacientes que evidenciaron quimerismo molecular completo tienen diagnóstico de Anemia aplásica y permanecieron en esta condición. En el caso de las leucemias linfoblásticas agudas de tipo B (LLA-B) el 44% presentaron quimerismo molecular completo y permanecieron en esos niveles el 100% de los pacientes evaluados posterior al análisis de 100 días post trasplante, por otro lado sólo el 10% de los pacientes diagnosticados con LLA-B fueron catalogados como quimerismo molecular mixto y no progresaron a la condición de quimerismo molecular completo ni evidenciaron fallo de injerto. El tipo de trasplante no muestra diferencias porcentuales en relación a la condición de quimerismo completo y mixto. Esto datos sugieren un mayor número de casos para aplicar un sustento estadístico.

BIBLIOGRAFIA

- Don Kristt, et al., Hematopoietic Chimerism Monitoring Based on STRs: Quantitative Platform Performance on Sequential Samples. J Biomol Tech. 2005 Dec; 16(4): 380-391
- Barrios M. et al., Chimerism status is a useful predictor of relapse after allogeneic stem cell transplantation for acute leukemia. Haematologica. 2003 Jul;88(7):801-10.
- Koldehoff M et al. Quantitative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation by real-time polymerase chain reaction with single nucleotide polymorphisms, standard tandem repeats, and Y-chromosome-specific sequences. Am J Hematol. 2006 Oct;81(10):735-46.