

# ESTUDIO DEL QUIMERISMO MOLECULAR CUANTITATIVO POR LINAJE CELULAR EN EL MONITOREO POS TRASPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS EMPARENTADO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

Luis Martín Cruz Díaz, Madeley Aliaga Zamudio, Carla Mendez Chacón Rodríguez, Luis Grados Molina

[martin.cruzd@gmail.com](mailto:martin.cruzd@gmail.com), [carlame27@gmail.com](mailto: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 monitoreo del trasplante de progenitores hematopoyéticos utilizando el quimerismo molecular cuantitativo, brinda información global acerca de los niveles porcentuales de perfiles genéticos del donante en relación al receptor. Durante la hematopoyesis, a partir de células progenitoras del donante en mayor proporción que aquellas pertenecientes al receptor, se ha identificado la capacidad diferencial para la expansión clonal de los distintos tipos celulares, brindando ventaja para algunas líneas celulares en desmedro de otras. Esta condición permite observar recaídas por línea celular, la cual no se va a identificar en estudios de quimerismo total ya que son enmascaradas por aquellas células que presentan mayor población. En estos casos, es necesario aislar los principales tipos celulares como células T y Mieloides para evaluar independientemente el quimerismo en cada una de ellas comparándola con el quimerismo total, de esta forma conoceremos la verdadera condición de los progenitores hematopoyéticos infundidos y las posibles alternativas para mantener el injerto. Nos planteamos los siguientes objetivos: Determinar los niveles de quimerismo molecular cuantitativo en pacientes sometidos a trasplante de progenitores hematopoyéticos por línea celular mieloide y células T. Evaluar la dinámica de quimerismo molecular cuantitativo por línea celular T y Mieloide en el tiempo por tipo de paciente y trasplante

## METODOLOGIA

**Pacientes:** Se analizaron 06 pacientes pediátricos con sus respectivos donantes en la fase pre-trasplante. Los sucesivos monitoreos solo al receptor se realizaron 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.

**Separación celular diferencial:** Se utilizó la separación celular inmunomagnética con anticuerpos monoclonales Anti-CD3 y Anti-CD66b para linfocitos T y la serie mieloide respectivamente (Systema EasySep). La pureza de las células aisladas se verificó por citometría de flujo, aceptando porcentajes superiores a 98%.

**Establecimiento de perfil genético pos-trasplante:** Se obtuvieron 3 perfiles genéticos pos-trasplante. Uno total a partir de sangre periférica en EDTA, sólo linfocitos T y sólo células mieloides. 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.

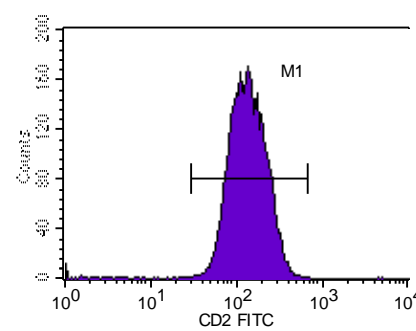
Tabla N°01: Pacientes Evaluados y catalogados como Quimerismo Molecular Completo con diagnóstico de LLA-B y Anemia Aplásica.

	Casos	QUIMERISMO TOTAL	LINFOCITOS T	CÉLULAS MIELOIDES
LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B	5/6	94%	95%	96%
ANEMIA APLÁSICA	1/6			

Tabla N°02: Pacientes Evaluados y catalogados como Quimerismo Molecular Mixto con diagnóstico de LLA-B y Anemia Aplásica

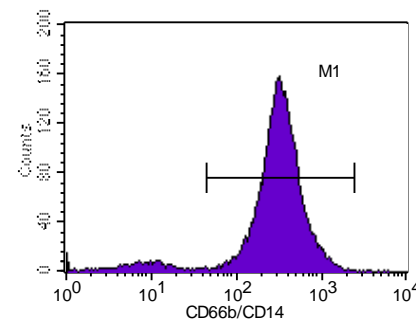
	Casos	QUIMERISMO TOTAL	LINFOCITOS T	CÉLULAS MIELOIDES
LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA TIPO B	0/6	--	--	--
ANEMIA APLÁSICA	4/4			
Paciente 1		75%	27%	97%
Paciente 2		62%	20%	88%
Paciente 3		13%	16%	5%
Paciente 4		17%	15%	17%

Gráfico N°01: Evaluación de la pureza para estudio de quimerismo por linaje celular por citometría de flujo.



**Linaje T**  
Panel: QC PUREZA  
Acquisition Date: 21-May-18  
Gate: G1  
Gated Events: 20135  
Total Events: 21694  
X Parameter: CD2 FITC (Log)

Marker	Events	% Gated
All	20135	100.00
M1	20024	99.45



**Linaje Mieloide**  
Panel: QC PUREZA  
Acquisition Date: 25-Jun-18  
Gate: G2  
Gated Events: 22729  
Total Events: 24435  
X Parameter: CD66b/CD14 (Log)

Marker	Events	% Gated
All	22729	100.00
M1	22258	97.93

## CONCLUSIONES

En el presente estudio descriptivo se observa que en relación al diagnóstico clínico, el 83% de los pacientes con leucemia linfoblástica aguda de tipo B presentaron quimerismo molecular completo y en el análisis posterior a la separación celular, los niveles fueron similares (>94%). Los cuatro pacientes con quimerismo molecular mixto con diagnóstico de Anemia Aplásica presentaron porcentajes variables en relación a las dos líneas celulares evaluadas y su comparación con el quimerismo total, siendo la línea celular T, la que presenta el porcentaje más bajo de quimerismo donante, lo cual podría comprometer la viabilidad del injerto por la expansión de células T pertenecientes al receptor. Estos datos, aunque limitados, indican la necesidad de realizar el estudio de quimerismo por línea celular en los casos de quimerismo molecular mixto principalmente en pacientes trasplantados diagnosticado de anemia aplásica para contemplar un probable fallo de injerto.

## 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
- Ri-Young Goh et al., Lineage-specific chimerism analysis in nucleated cells, T cells and natural killer cells after myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Korean J Hematol. 2011 Mar; 46(1): 18–23.