



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

ESPECIALIZACIÓN EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

**EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LOS
GENES KIR Y EL DESARROLLO DE
ENFERMEDAD DE INJERTO CONTRA
HOSPEDERO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON
TRASPLANTE DE CÉLULAS HEMATOPOYÉTICAS**

TESINA

**QUE PARA OBTENER EL:
GRADO DE ESPECIALISTA**

**EN:
BIOQUÍMICA CLÍNICA**

**PRESENTA:
MARÍA FERNANDA CASTAÑEDA PAHECO**



M EN C. ISRAEL PARRA ORTEGA

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado

Presidente Dra. Marta Alicia Menjivar Iraheta (Facultad de Química-UNAM)

Vocal M.A.S.S Miriam Susana Cruz Gómez (IMSS-U.M.F. No.1)

Secretario Dra. Bárbara Itzel Peña Espinoza (Facultad de Química-UNAM)

1^{er} Suplente Dr. Jesús Norberto Lozano Ruíz Esparza (Facultad de Química-UNAM)

2^o Suplente Dra. Paola Viridiana León Mimila (Facultad de Química-UNAM)

Trabajo realizado en el laboratorio de Oncohematología e Histocompatibilidad del departamento de Laboratorio Clínico en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Tutor

M. en. C. Israel Parra Ortega

Grado y Nombre

Sustentante

QFB. María Fernanda Castañeda Pacheco

Grado y Nombre

Agradecimientos

A mi mamá y a mi papá, por inspirarme y motivarme a seguir mis sueños, por apoyarme en cada decisión y ser quienes me han guiado siempre en el camino de la vida, porque sin ustedes no estaría aquí.

A mis hermanos Aurora y Andy, por ser mis compañeros y ayudantes cuando me hacían falta manos; por su apoyo incondicional y por cada momento que hemos vivido juntos.

A Nayelli, por sus consejos y su apoyo en cada momento que ha sido necesario durante este camino.

A mis abuelitas Martha y Jaqueline, por siempre motivarme e impulsarme a seguir adelante, por todo su apoyo y su cariño. A mi abuelito Fernando, que siempre nos cuida desde el cielo.

A mi novio, Víctor, por estar a mi lado en cada momento bueno o malo, en cada logro y tropiezo. Por motivarme e impulsarme a alcanzar mis metas y por ser mi compañero en cada paso.

A mi mejor amiga Gaby, por siempre echarme porras y animarme aún a la distancia, por escucharme y estar ahí en cada momento, por el apoyo incondicional.

A la Dra. Tania Angeles, al QFB. Fernando Hernández y a la QC. Natalia Valdes por todas sus enseñanzas tanto para el laboratorio como para la vida.

Al M. en C. Israel Parra Ortega, por permitirme formar parte de su equipo para desarrollar este proyecto.

Resumen

El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) es uno de los tratamientos indicados para diferentes enfermedades hematológicas y no hematológicas. La enfermedad de injerto contra hospedero (EICH) es una de las complicaciones post-TCPH más frecuentes; se presenta en hasta el 60% de los pacientes y es una de las principales causas de morbimortalidad de estos pacientes. En el presente trabajo se evaluó la asociación de los genes KIR con el desarrollo de la EICH en pacientes pediátricos que se encuentran en protocolo de TCPH. Para ello, se realizó la genotipificación de los genes KIR de 36 parejas de donador-receptor por el método de SSO y la genotipificación de HLA por secuenciación de nueva generación. El análisis estadístico para la búsqueda de asociación se realizó por chi cuadrada, considerando significativos valores de $p < 0.05$, y la magnitud de la asociación se determinó por regresión logística. Se observó que el haplotipo KIR encontrado mas frecuentemente en la población mexicana que acude al Hospital Infantil de México Federico Gómez es el Bx. Así mismo, se encontró asociación del gen *KIR2DL2* del receptor con el desarrollo de EICH y de los genes *KIR2DS4* y *KIR3DL3* del donador con un desenlace favorable post-TCPH. Los resultados sugieren la importancia de incluir la tipificación de los genes *KIR* en la batería de pruebas pre-trasplante de pacientes y donadores en protocolo de TCPH.

Índice General

Introducción	9
Antecedentes.....	9
Antecedentes del trasplante de células hematopoyéticas (TCPH)	9
Generalidades del TCPH	10
Tipos de TCPH.....	12
Compatibilidad en el TCPH	12
Complicaciones Post-TCPH.....	15
Generalidades de la Enfermedad injerto contra hospedero (EICH).....	15
Clasificación de la EICH.....	17
Células Natural Killer (NK)	18
Receptores KIR	20
Organización genómica de los receptores KIR.....	22
Relación de los receptores KIR con el TCPH y la EICH	24
Planteamiento del problema	28
Justificación	29
Hipótesis	30
Objetivo general.....	31
Objetivos específicos	31
Materiales y métodos.....	32
Tamaño y selección de la muestra.....	32
Extracción de DNA	33
Genotipificación de HLA	34

Genotipificación de receptores KIR	34
Operacionalización de las variables	35
Análisis estadístico	37
Consideraciones éticas	38
Resultados	39
Características de la población	39
Haplotipos KIR.....	40
Frecuencias génicas KIR.....	42
Evaluación de las asociaciones de los genes KIR	45
Discusión	49
Conclusiones	53
Perspectivas	54
Referencias.....	55
Anexos	66

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Receptores KIR y sus ligandos</i>	22
Tabla 2. <i>Relación de los genes KIR con el desarrollo de EICH y otras enfermedades</i>	25
Tabla 3. <i>Relación de los haplotipos y las concordancias KIR con el desarrollo de EICH</i>	26
Tabla 4. <i>Descripción operacionalizada de las variables del estudio</i>	36
Tabla 5. <i>Características generales de la muestra</i>	39
Tabla 6. <i>Frecuencia de los haplotipos KIR en pacientes con TCPH</i>	41
Tabla 7. <i>Frecuencia de los genes KIR en donadores para TCPH</i>	44
Tabla 8. <i>Comparación de frecuencias de los genes KIR por diagnóstico de base</i>	45
Tabla 9. <i>Comparación de frecuencias de los genes KIR del receptor por desarrollo de EICH y estado actual</i>	46
Tabla 10. <i>Comparación de frecuencias de los genes KIR del donador con desarrollo de EICH y estado actual</i>	47
Tabla 11. <i>Asociación entre los genes KIR del receptor y el desarrollo de EICH</i> ...	48
Tabla 12. <i>Asociación entre los genes KIR del donador y el estado actual</i>	48

Índice de figuras

Figura 1. Mapa genómico del antígeno leucocitario humano	14
Figura 2. Estructura de los receptores KIR activadores e inhibidores	21
Figura 3. Organización genómica de los genes KIR en los haplotipos A y B	23
Figura 4. Diagrama de flujo de la metodología	32
Figura 5. Haplotipos KIR	40
Figura 6. Frecuencias génicas KIR	42
Figura 7. Mecanismo propuesto para el desarrollo de EICH	51

Introducción

Antecedentes

Antecedentes del trasplante de células hematopoyéticas (TCPH)

Tras el descubrimiento de la existencia de una célula troncal hematopoyética caracterizada fenotípicamente por la presencia de los marcadores CD34+, CD38+, CD133+, CD117+ y HLA-DR (Antígeno Leucocitario Humano DR) como antígenos de superficie y que tiene la capacidad de dar origen a todas las células sanguíneas (Domínguez et al., 2015), comenzaron las investigaciones que sentaron las bases para el trasplante de células hematopoyéticas (TCPH). En la década de los años 50, los experimentos realizados por Till y McCulloch demostraron que la administración de células de la médula ósea en ratones sometidos a dosis letales de radiación podía evitar su muerte gracias a la capacidad de estas células para colonizar la médula ósea del ratón receptor y restablecer una hematopoyesis sana (Gaytán, 2013; Jaime et al., 2004). Más adelante, en los años de 1957 y 1959, fueron llevados a cabo el primer TCPH en humanos y el primer trasplante alogénico respectivamente. Posteriormente, a finales de la década de los 60 y con el descubrimiento del complejo principal de histocompatibilidad, se lograron llevar a cabo los primeros TCPH con donadores compatibles de manera exitosa (Gaytán, 2013).

En México, el primer trasplante de células hematopoyéticas se realizó en el Instituto Nacional de Nutrición por el Dr. Ricardo Sosa en el año de 1980. En el Hospital Infantil de México Federico Gómez, el primer TCPH se realizó en el año de 1989 (Gaytán, 2013).

Generalidades del TCPH

El TCPH tiene como principal objetivo restaurar la función hematopoyética de la médula ósea del receptor debido a que esta se ha visto afectada por alguna enfermedad propia de su médula ósea o como consecuencia de alguna otra patología. En algunas ocasiones, el TCPH también puede tener como objetivo contrarrestar el efecto que presentan algunos tratamientos como la quimioterapia o la radioterapia (Gaytán, 2013).

El TCPH se ha indicado como tratamiento para muchas enfermedades hematológicas y no hematológicas como lo son (Gaytán, 2013; Jaime et al., 2004):

- a) Enfermedades hematológicas: anemias aplásicas, anemia de Fanconi, talasemias, osteopetrosis, enfermedad de Gaucher, síndrome de Wiskott-Aldrich.
- b) Enfermedades oncohematológicas: leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloblástica aguda (LMA), leucemia granulocítica crónica (LGC), linfoma Hodgkin y no Hodgkin.
- c) Enfermedades no hematológicas: tumores sólidos, neuroblastomas, tumores cerebrales, sarcoma de Ewing.

Previo a que se lleve a cabo el TCPH, es necesario someter al receptor a un régimen de acondicionamiento a base de quimioterapia y/o radioterapia cuya finalidad es reducir la cantidad de células tumorales (cuando hay una neoplasia) y suprimir su sistema inmunológico para favorecer la aceptación de las células trasplantadas (Bacigalupo et al., 2009; Lum et al., 2019; Saad et al., 2023). Estos regímenes pueden clasificarse en tres:

- a) Mieloablatoivo: se aplican altas dosis de quimioterapia y/o radioterapia que destruyen por completo las células de la médula ósea del receptor; sin embargo, su toxicidad y mortalidad son elevadas.
- b) No mieloablatoivo: se utilizan dosis bajas de quimioterapia y/o radioterapia, no se destruye por completo la médula ósea del receptor, pero presentan menor mortalidad.
- c) De intensidad reducida: es una categoría intermedia entre los regímenes mieloablatoivos y no mieloablatoivos. No destruyen por completo las células hematopoyéticas del receptor, pero pueden presentar alta morbimortalidad.

Las células progenitoras hematopoyéticas pueden ser obtenidas de diferentes fuentes. Dentro de las más utilizadas actualmente se encuentran (Gaytán, 2013; SSA et al., 2007; Soto et al., 2019):

- a) Médula ósea: las células se obtienen por aspirado de las crestas ilíacas mediante una punción.
- b) Sangre de cordón umbilical: las células progenitoras se obtienen del cordón umbilical; en ella se encuentra una mayor cantidad de células que expresan los antígenos de superficie CD34+, CD38+ y HLA-DR a comparación de la médula ósea. Por otro lado, las interleucinas producidas también difieren de las de la médula ósea encontrándose en mayor cantidad la IL11, el factor de células troncales y la trombopoyetina y en menor cantidad el factor estimulante de colonias de granulocitos, factor de colonias de macrófagos, IL1, IL15 e IL18.
- c) Sangre periférica: las células troncales hematopoyéticas se obtienen de la circulación tras favorecer su movilización de la médula ósea a la sangre

mediante el uso de citocinas o factores de crecimiento hematopoyético, como el factor de crecimiento de colonias granulocíticas, mediante un procedimiento de aféresis.

Tipos de TCPH

Dependiendo de la relación entre el receptor y el origen de las células progenitoras hematopoyéticas, los TCPH se pueden clasificar en (Gaytán, 2013; SSA et al., 2007):

- a) Autólogos: las células progenitoras hematopoyéticas son obtenidas del mismo receptor antes de someterse a quimioterapia y/o radiación, son conservadas y posteriormente reinfundidas. Este tipo de trasplante suele realizarse en tumores sólidos.
- b) Alogénicos: las células progenitoras se obtienen de un individuo de la misma especie que puede estar o no relacionado con el receptor. Cuando el donador es gemelo idéntico del receptor, el trasplante se denomina singénico; y cuando el trasplante se da entre mamá o papá e hijo, se denomina haploidéntico.

Compatibilidad en el TCPH

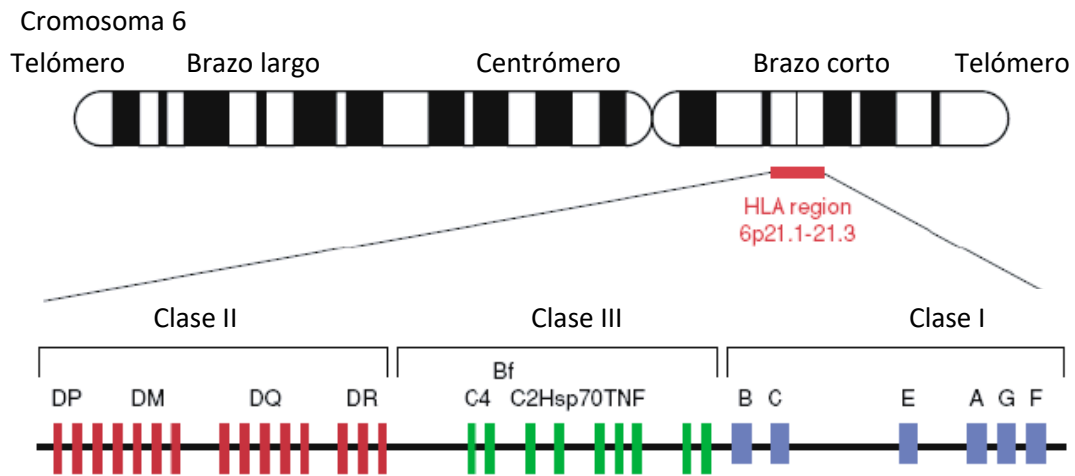
Para poder llevar a cabo una correcta selección del donador para un TCPH, además de otros requisitos para descartar contraindicaciones médicas como estudios serológicos y análisis completos, es indispensable llevar a cabo la tipificación del sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) tanto del receptor

como del donador, ya que de existir discrepancias considerables entre ellos puede presentarse como desenlace el rechazo de tipo celular o humoral del trasplante (SSA et al., 2007).

El sistema HLA es un conjunto de genes altamente polimórficos que forman parte del complejo principal de histocompatibilidad (*Major Histocompatibility Complex*, MHC por sus siglas en inglés) en los seres humanos y es heredado en forma de haplotipos con carácter autosómico codominante (Trujillo et al., 2018). Como se muestra en la figura 1, se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 6 y está estructurado en tres regiones (Trujillo et al., 2018):

- a) HLA Clase I: codifica moléculas de histocompatibilidad clase I; está localizada en los locus A, B y C. Estas moléculas se expresan en la mayoría de las células nucleadas.
- b) HLA Clase II: codifica moléculas de histocompatibilidad clase II; está localizada en los locus DR, DQ y DP. Estas moléculas se expresan en la membrana de las células presentadoras de antígeno como las células dendríticas, los macrófagos y las células B.
- c) HLA Clase III: codifica para moléculas funcional y estructuralmente diferentes a las HLA clase I y II como lo son componentes del complemento y proteínas de inflamación o choque térmico.

Figura 1. Mapa genómico del antígeno leucocitario humano



Modificada de Berlingerio *et al.*, 2009.

Las principales funciones biológicas de las moléculas de HLA son la presentación de antígenos y la regulación de la respuesta inmune mediante el reconocimiento de lo propio y lo ajeno. Las moléculas HLA de clase I presentan antígenos propios endógenos a los linfocitos T CD8+ citotóxicos; la inexpressión de estas moléculas o la expresión de antígenos tumorales o virales activa su función citotóxica. Por otro lado, las moléculas HLA de clase II presentan antígenos exógenos a los linfocitos T CD4+ cooperadores (Trujillo *et al.*, 2018).

Debido a su papel en el reconocimiento de lo propio y lo ajeno, así como su gran cantidad de variantes genéticas, las moléculas de HLA juegan un papel importante en el trasplante de órganos y tejidos. Las divergencias en los alelos del HLA de un donador y un receptor son un factor determinante en el éxito o fracaso de un trasplante (Trujillo *et al.*, 2018).

Complicaciones Post-TCPH

De manera general, los pacientes que no presentan complicaciones tras el TCPH pueden incorporarse a sus actividades cotidianas con normalidad. Sin embargo, existe la posibilidad de que los pacientes presenten complicaciones tempranas o tardías.

Dentro de las complicaciones tempranas, la más frecuente es la enfermedad de injerto contra hospedero (EICH) que representa la principal causa de morbilidad y mortalidad tras un TCPH y que puede incluso llegar a ocasionar la pérdida del trasplante. Las complicaciones tardías incluyen infecciones recurrentes derivadas de las deficiencias inmunitarias y alteraciones sistémicas como las hemáticas, cardiovasculares, pulmonares, gastrointestinales, neurológicas, entre otras (Gaytán, 2013).

Generalidades de la Enfermedad injerto contra hospedero (EICH)

La enfermedad de injerto contra hospedero (EICH) es una de las complicaciones más frecuentes que se presentan después de un trasplante de células hematopoyéticas. En la EICH, las células inmunocompetentes del donador que se encuentran en el injerto reconocen como extrañas a las moléculas presentes en los tejidos del receptor, usualmente por diferencias marcadas de histocompatibilidad, ocasionando un daño en los mismos (Justiz et al., 2022; Ramachandran et al., 2019). Los sistemas y tejidos que se ven afectados más frecuentemente en la enfermedad son la piel, tracto gastrointestinal e hígado; sin embargo, se han observado también alteraciones en pulmones, riñones, ojos y el sistema hematopoyético.

La incidencia de la EICH es considerablemente alta, presentándose entre el 30 y 60% de los pacientes que recibieron un trasplante de células hematopoyéticas. Además, representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en estos pacientes, llegando a ocasionar la muerte de hasta el 10% o 15% de los mismos (Justiz et al., 2022; Ramachandran et al., 2019; Guarín et al., 2023).

El desarrollo de EICH y la severidad con la que puede desarrollarse se encuentra asociado a la presencia de algunos factores de riesgo como lo son (Justiz et al., 2022; Flowers et al., 2011):

- Factores del receptor y/o del donador: incompatibilidades HLA, donadores no relacionados, diferencias en el sexo, edad, aloinmunizaciones previas del donador, seropositividad a citomegalovirus o virus de Epstein Barr.
- Fase de acondicionamiento: altas dosis de quimioterapia, uso conjunto de quimioterapia y radioterapia.

En la EICH, los receptores de las células inmunocompetentes del donador que se encuentran presentes en el injerto reconocen como ajenas las moléculas HLA de clase I que se encuentran en los tejidos del receptor y para comprender la fisiopatología de la EICH, el desarrollo se divide en tres fases principales (Justiz et al., 2022; Ramachandran et al., 2019):

- Aumento de la liberación de citocinas proinflamatorias y de la expresión de moléculas de MHC derivado del daño en tejidos causado por el régimen de acondicionamiento.
- Activación de las células inmunes del donador, usualmente células T, por interacción con las células presentadoras de antígenos del receptor.

- Migración de linfocitos T citotóxicos y células NK al tejido blanco, ocasionando un daño en el mismo.

El desarrollo de EICH, en los diferentes sistemas, puede conllevar a su vez múltiples complicaciones como lo son bronquiolitis, neumonía, fibrosis, malabsorción, endotelitis, pericolangitis e infecciones que pueden tener un desenlace mortal (Justiz et al., 2022).

Clasificación de la EICH

La enfermedad de injerto contra hospedero (EICH) se clasifica comúnmente de acuerdo con el momento en el que se presenta la enfermedad, dividiéndose principalmente en aguda y crónica. Sin embargo, en la actualidad puede dividirse de acuerdo con las manifestaciones clínicas en 4 grupos (Justiz et al., 2022; Ramachandran et al., 2019):

- EICH aguda clásica: se presenta en los primeros 100 días después de haberse llevado a cabo el TCPH con las manifestaciones clínicas clásicas de una EICH aguda; en ella se ven usualmente afectadas piel, tracto gastrointestinal e hígado.
- EICH aguda persistente, recurrente o de inicio tardío: se presenta después de los primeros 100 días de haberse llevado a cabo el TCPH con las manifestaciones clínicas clásicas de una EICH aguda.
- EICH crónica clásica: se presenta después de los primeros 100 días de haberse llevado a cabo el TCPH con manifestaciones clínicas clásicas de EICH crónica; en ella se presentan características similares a las de

esclerosis sistémica y enfermedades vasculares del colágeno, así como infecciones recurrentes.

- Síndrome de superposición: se presentan manifestaciones clínicas tanto de EICH aguda como crónica.

La EICH aguda también puede dividirse en diversas etapas con base en las manifestaciones clínicas y la severidad del daño en los órganos involucrados. Para ello se utiliza la escala de Glucksberg que asigna un grado global a la EICH del I al IV de acuerdo con lo siguiente (Justiz et al., 2022; Ramachandran et al., 2019; Guarín et al., 2023):

- I. Leve: se encuentra involucrada la piel en estados iniciales; no hay daño hepático o gastrointestinal.
- II. Moderada: se encuentra involucrada la piel en estados más avanzados; hay daño hepático o gastrointestinal leve.
- III. Severa: se encuentran involucradas la piel, el hígado y/o el tracto gastrointestinal con daños importantes.
- IV. Tratamiento de por vida: se encuentran daños muy severos en piel, hígado y/o tracto gastrointestinal.

Células Natural Killer (NK)

Las células asesinas naturales (*Natural Killer*, NK por sus siglas en inglés), también conocidas como linfocitos citotóxicos naturales son células que juegan un papel importante en la respuesta inmune innata contra virus y la proliferación de células tumorales; constituyen aproximadamente el 15% de las células mononucleares que se encuentran en la sangre. Pueden ser identificadas mediante la expresión de los

marcadores CD56+, CD16+ y la ausencia del marcador CD3+, específico de los linfocitos T (Abbas et al., 2018; Sivori et al., 2019).

La principal función de las células NK es la destrucción de células infectadas por virus y bacterias intracelulares, así como de células tumorales. Para ello, las células NK reconocen moléculas activadoras expresadas en las células infectadas o dañadas y liberan proteínas como la perforina y granzimas, que inducen la muerte de las células diana por apoptosis, e interleucinas como el interferón gamma que aumenta la actividad de los macrófagos para fagocitar y destruir microorganismos fagocitados (Abbas et al., 2018).

Por otro lado, la forma en la que las células NK también distinguen a las células infectadas o dañadas de las sanas es mediante moléculas HLA de clase I. El reconocimiento de las moléculas HLA de clase I mantiene a las células NK inactivas, evitando la destrucción de las células sanas; sin embargo, las células dañadas presentan una disminución en la expresión de estos antígenos favoreciendo su activación para proceder con la destrucción de estas (Sivori et al., 2019).

La regulación de las células NK está mediada por señales generadas por receptores activadores e inhibidores que se encuentran en su superficie promoviendo o inhibiendo la activación de estas. De manera general, los receptores activadores van a reconocer ligandos que se expresan en células infectadas o dañadas y favorecerán la actividad citotóxica de la célula NK, mientras que los receptores inhibidores reconocerán ligandos que se encuentran expresados en

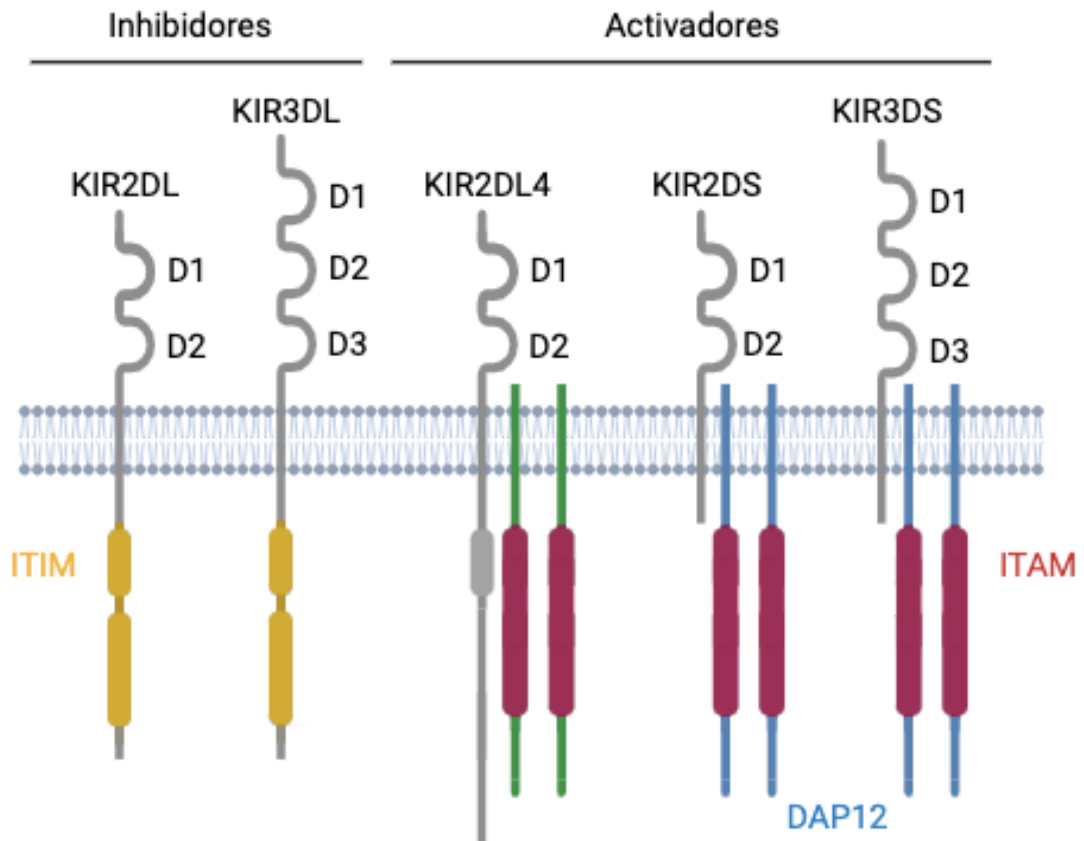
células sanas, como las moléculas HLA de clase I, e impedirán su activación (Abbas et al., 2018; Sivori et al., 2019).

Dentro de los receptores activadores presentes en la célula NK se encuentran el CD16, los NCR's (del inglés, *Natural Cytotoxicity Receptors*) y NKG2D; y en los receptores inhibidores se encuentran CD94 y NKG2A. También se encuentra presente una familia de receptores denominados receptores inmunoglobulínicos del linfocito citolítico natural (*killer cell immunoglobulin-like receptors*, KIR por sus siglas en inglés) a la que pertenecen receptores tanto activadores como inhibidores (Abbas et al., 2018).

Receptores KIR

Los receptores tipo KIR son un grupo de receptores de las células NK en el que se encuentran receptores tanto activadores como inhibidores. Dependiendo del receptor, estos pueden estar conformados por 2 dominios (2D) o 3 dominios (3D) proteicos de tipo inmunoglobulina y una cadena citoplasmática que puede ser corta (S) o larga (L) (Figura 2). Además, los receptores activadores interaccionan a través de su cadena citoplasmática con un adaptador DAP12 que contiene secuencias de tipo tirosina de activación del receptor inmunitario (*immunoreceptor tyrosine-based activation motifs*, ITAM por sus siglas en inglés); mientras que los receptores inhibidores se encuentran asociados a estructuras de tipo tirosina de inhibición del receptor inmunitario (*immunoreceptor tyrosine-based inhibition motifs*, ITIM por sus siglas en inglés) (Dębska-Zielkowska et al., 2021; Pende et al., 2019).

Figura 2. Estructura de los receptores KIR activadores e inhibidores



Modificada de Campbell et al, 2011.

Los receptores tipo KIR presentan como su principal ligando antígenos HLA de clase I, específicamente a alelos HLA B y C que se encuentran dentro de los grupos C1, C2 y Bw4. En la tabla 1 se muestran los alelos a los que se unen diferentes receptores KIR (Dębska-Zielkowska et al., 2021; Pende et al., 2019).

Tabla 1. Receptores KIR y sus ligandos

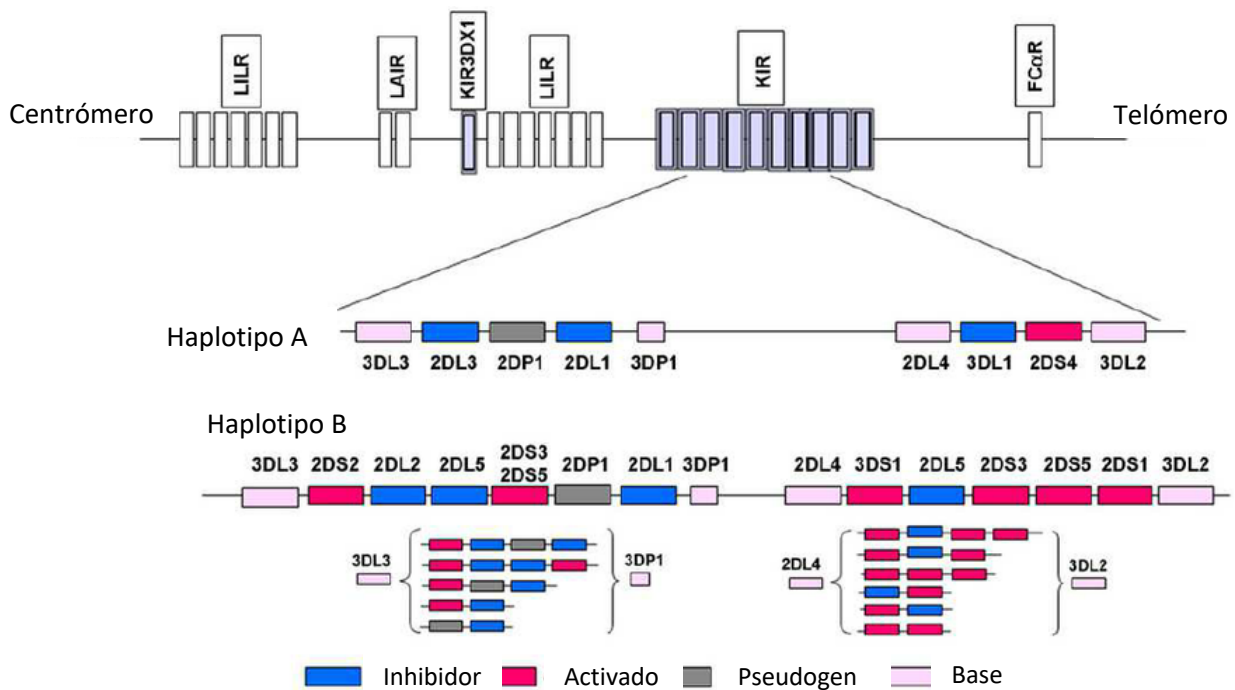
Receptores	Ligandos
KIR2DL2 (inhibidor)	HLA-C1
KIR2DL3 (inhibidor)	Alelos: HLA-Cw*02, Cw*04, Cw*05 y
KIR2DS2 (activador)	Cw*06
KIR2DL1 (inhibidor)	HLA-C2
KIR2DS1 (activador)	Alelos: HLA-Cw*01, Cw*03, Cw*07 y
	Cw*08
KIR3DL1 (inhibidor)	HLA-Bw4
	Alelos: HLA-A*23, A*24, A*32
KIR3DS1 (activador)	HLA-Bw4
	Alelos: HLA-B*51

Organización genómica de los receptores KIR

Los genes que codifican para receptores KIR se encuentran en el cromosoma 19 dentro del complejo de receptores de leucocitos. Hasta el momento se conocen 16 genes KIR, de los cuales 14 codifican para una proteína (*KIR2DL1*, *KIR2DL2*, *KIR2DL3*, *KIR2DL4*, *KIR2DL5*, *KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS4*, *KIR2DS5*, *KIR3DL1*, *KIR3DS1*, *KIR3DL2*, *KIR3DL3*) y 2 son pseudogenes (*KIR2DP1* y *KIR3DP1*). De los 14 genes, los 6 de cadena corta (S) codifican para receptores activadores y los 8 genes de cadena larga (L) codifican para genes inhibidores (Dębska-Zielkowska et al., 2021; Pende et al., 2019; Gao et al., 2020).

Los genes KIR son altamente polimórficos, conociéndose más de 1000 variantes alélicas diferentes para ellos. Por lo anterior, es altamente probable que personas no relacionadas entre sí presenten receptores KIR diferentes (Dębska-Zielkowska et al., 2021).

Figura 3. Organización genómica de los genes KIR en los haplotipos A y B



Modificada de Ghannad et al., 2014.

Los grupos de alelos que forman a los genes KIR suelen heredarse juntos de un solo progenitor, formando los haplotipos KIR. Como se muestra en la figura 3, se han identificado dos principales haplotipos dependiendo de la composición genética (Dębska-Zielkowska et al., 2021; Pende et al., 2019; Gao et al., 2020):

- Haplotipo A: contiene únicamente un gen activador, el *KIR2DS4* y otros genes inhibidores.

- Haplotipo Bx: es mucho más variable, ya que contiene entre 1 y 5 genes activadores (*KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS5* y *KIR3DS1*); también pueden encontrarse genes inhibidores como *KIR2DL2* y *KIR2DL5*.

Relación de los receptores KIR con el TCPH y la EICH

Aunque se ha reportado poca información al respecto, se ha planteado que la interacción entre los receptores KIR y sus ligandos de HLA clase I podría estar involucrada en complicaciones post-TCPH.

Se han observado diferentes maneras en las que las células NK y sus receptores KIR junto con sus ligandos contribuyen en el desarrollo de EICH. Una de ellas es mediante la producción y liberación de altas cantidades de citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa y el interferón gamma, activando a las células presentadoras de antígenos del receptor y favoreciendo el reconocimiento de aloantígenos (Gao et al., 2020; Hill et al., 2021).

Por otro lado, se ha observado que compatibilidades e incompatibilidades en los receptores KIR-ligando entre el donador y el receptor puede conllevar al desarrollo de EICH. Lo anterior probablemente debido a que si, tras el trasplante, los ligandos presentes en las células del receptor no se unen satisfactoriamente a los receptores KIR inhibidores de las células NK, se favorecerá la activación y aloreactividad de estas últimas. También se postula que los receptores KIR activadores pueden jugar un papel importante en la aloreactividad de las células NK (Zhang et al., 2021; Sahin et al., 2018; Torío et al., 2018). En las tablas 2 y 3 se muestra un resumen de algunos de los efectos que se han observado que presentan los genes KIR sobre el desarrollo de EICH y otras enfermedades importantes en diferentes estudios.

Tabla 2. *Relación de los genes KIR con el desarrollo de EICH y otras enfermedades*

Genes KIR	Observaciones	Referencia
KIR2DL1 KIR2DL2	Presencia en el donador y ausencia del ligando en el receptor aumenta la incidencia de EICH.	(Willem et al., 2019)
KIR2DS2	Reducción en su expresión favorece el desarrollo de EICH.	(Li et al., 2021)
KIR2DS4	La presencia del alelo completo en el donador se asocia al desarrollo de EICH.	(An et al., 2020)
KIR2DS1 KIR2DS5 KIR2DS4	La presencia de estos genes aumenta el riesgo de adquirir enfermedad de Crohn en personas de descendencia europea.	(Samarani et al., 2019)
KIR2DL2	Factor de susceptibilidad para el desarrollo de Diabetes Mellitus tipo I.	(Soltani et al., 2020)
KIR2DL1	Posible factor de riesgo para el desarrollo de Lupus Eritematoso Sistémico.	(Liang et al., 2017)

KIR2DL5 KIR2DS1	Asociación positiva al riesgo de desarrollar colitis ulcerativa.	(Fathollahi et al., 2018)
KIR3DS1	Susceptibilidad a síndrome de ovario poliquístico.	(Sala Elpidio et al., 2018)
KIR2DS4 KIR3DL1	Riesgo de desarrollar COVID-19 severo.	(Hajeer et al., 2022)
KIR3DS1	Implicado en la patología de Psoriasis vulgaris.	(Graciano-Machuca et al., 2020)
KIR2DS1 KIR2DS5 KIR3DS1	Incremento en el riesgo de espondilits anquilosante.	(Rezaei et al., 2018)

Tabla 3. *Relación de los haplotipos y las concordancias KIR con el desarrollo de EICH*

Haplotipos KIR	Observaciones	Referencia
Pacientes trasplantados con Haplotipo Bx	Aumento en la incidencia de EICH crónico.	(Sahin et al., 2018)
Concordancia en todos los genes KIR inhibidores	Disminución de la incidencia de EICH crónico.	(Sahin et al., 2018)

Concordancia en todos los genes KIR activadores	Disminución de la incidencia de EICH crónico.	(Sahin et al., 2018)
Pacientes trasplantados con Haplotipo Bx	Disminución de la incidencia de EICH.	(Torío et al., 2018)
Concordancia en todos los genes KIR	Disminución de la incidencia de EICH.	(Torío et al., 2018)
Concordancia en todos los genes KIR	Mayor riesgo de EICH aguda grado II a IV en pacientes con LMA.	(Zhang et al., 2021)
Pacientes trasplantados con Haplotipo A	Disminución de la incidencia de EICH aguda en pacientes con LMA.	(Hong et al., 2021)
Pacientes trasplantados con Haplotipo B	Menor riesgo de EICH aguda grado II a IV en pacientes con LMA.	(Heatley et al., 2018)
Pacientes trasplantados con Haplotipo Bx	Mayor riesgo de EICH aguda grado III a IV en pacientes con LMA.	(Hosokai et al., 2017)

Planteamiento del problema

La enfermedad de injerto contra hospedero (EICH) es considerada una de las complicaciones más frecuentes de los trasplantes de células hematopoyéticas, asociándose a una de las principales causas de la pérdida del trasplante y mortalidad en estos pacientes. Además, considerando que el costo de un trasplante de células hematopoyéticas (TCPH) en nuestro país ronda entre los 55 mil y los 166 mil dólares (Díaz, 2023) y que el desarrollo de EICH genera estancias hospitalarias prolongadas y, con ello, aumento en los costos de atención médica, es importante conocer y determinar otros factores que podrían estar involucrados en el desarrollo de este padecimiento, como lo son los genes *KIR*. Por lo anterior, el conocer si existe asociación entre los genes *KIR* de la pareja donador-receptor con el desarrollo de EICH es importante para la prevención de esta complicación.

Justificación

Como se ha observado, la incidencia de EICH es bastante alta, presentándose en entre el 30 y 60% de los pacientes que reciben un TCPH y ocasionado la muerte en hasta el 15% de los mismos (Justiz et al., 2022; Ramachandran et al., 2019; Guarín et al., 2023). En el 2015, se presentó una incidencia de EICH del 18.7% en pacientes pediátricos que recibieron trasplante de células hematopoyéticas en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (Jaramillo et al., 2018), cifra que ha ido al alza. Por ello, el conocimiento y determinación de factores que puedan estar asociados con el desarrollo de dicho padecimiento, como lo son los genes KIR, puede brindar información importante que sienta las bases para que en un futuro pueda incluirse su tipificación en la batería de estudios pre-trasplante y con ello poder realizar una selección del donador más minuciosa, así como predecir el desarrollo de EICH e incrementar la posibilidad de éxito del trasplante beneficiando así a los pacientes que sean sometidos a este tratamiento.

Hipótesis

Hay asociación entre uno o más genes KIR del receptor y/o del donador con el desarrollo de la enfermedad de injerto contra hospedero (EICH) en pacientes pediátricos en protocolo de trasplante de células hematopoyéticas.

Objetivo general

Evaluar la asociación de los genes KIR con el desarrollo de la enfermedad de injerto contra hospederio (EICH) en pacientes pediátricos que se encuentran en protocolo de trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH).

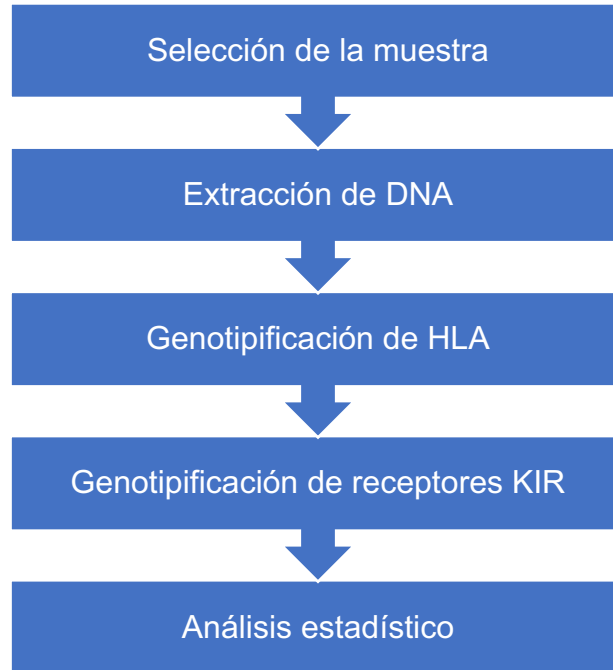
Objetivos específicos

- Realizar la genotipificación de las moléculas de HLA clase I en las parejas de donador y receptor en protocolo de TCPH.
- Realizar la genotipificación de los receptores KIR en las parejas de donador y receptor en protocolo de TCPH.
- Definir la asociación entre los genes KIR del receptor y el diagnóstico de base de los pacientes en protocolo de TCPH.
- Establecer la asociación de los genes KIR del receptor y el donador con el diagnóstico de EICH y el estado actual de los pacientes en protocolo de TCPH.

Materiales y métodos

En la figura 4 se muestra un diagrama que resume la metodología llevada a cabo para la realización del proyecto; posteriormente se ahondará en cada paso.

Figura 4. Diagrama de flujo de la metodología



Tamaño y selección de la muestra

Tomando en cuenta que el número de trasplantes de células hematopoyéticas que se realizan en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) es de 20 al año y la incidencia reportada de EICH en un reporte previo fue de 18.7% (Jaramillo et al., 2018), se realizó el cálculo del tamaño de muestra representativo para una $p < 0.05$ a un intervalo de confianza del 95%.

$$n = \frac{(20) * 1.96^2 * 0.187 * 0.813}{(20 - 1) * 0.05^2 + 1.96^2 * 0.187 * 0.813}$$

$$n = 18.5 \approx 19$$

Se tomaron en cuenta los siguientes criterios de inclusión para conformar a la muestra:

- Parejas de receptor-donador que se hayan sometido a trasplante de células hematopoyéticas en el periodo de 2015 a 2020 en el Hospital Infantil de México.
- Contar con la firma del consentimiento informado por parte del receptor y donador.

Se tomaron como criterios de exclusión los siguientes:

- Falta de información en el expediente clínico relativa al desarrollo de la enfermedad de injerto contra hospedero o al estado actual del paciente.
- Ausencia de la muestra pre-trasplante de DNA del receptor y/o del donador.
- Que no se cuente con la firma del consentimiento informado del receptor y/o del donador.

Se tomaron como criterios de eliminación los siguientes:

- Muestra de DNA de calidad inadecuada del receptor y/o del donador.
- Sujetos que hayan decidido retirarse del estudio.

Extracción de DNA

Se realizó la extracción de DNA de muestras de sangre periférica del donador y del receptor mediante la técnica de columnas de sílice (kit comercial, QIAamp DNA Mini Kit). Se determinó la concentración aproximada y la calidad del DNA estableciendo la relación de las absorbancias de las muestras a las longitudes de onda de 260 y 280 nm por espectrofotometría utilizando el equipo NanoDrop y, posteriormente, se confirmó la concentración por fluorometría (Qubit). Se realizaron las diluciones de

las muestras para alcanzar una concentración de entre 20 y 30 ng/μL y se almacenaron a -20°C.

Genotipificación de HLA

Se realizó la genotipificación de HLA Clase I y Clase II mediante secuenciación de nueva generación (kit comercial, AllType™ NGS 11 loci Amplification Kit) que de manera general consta de los siguientes pasos:

1. Amplificación y purificación de la muestra.
2. Normalización de las muestras a 100 ng.
3. Tagmentación de las muestras (fragmentación, indexado y ligación).
4. Selección de los fragmentos del tamaño de interés (300 pb a 1 kpb).
5. Amplificación y purificación de los fragmentos.
6. Preparación de la librería.
7. Secuenciación.

Al finalizar, se obtuvieron las secuencias de los genes completos del loci A, B, C, DQA1 y DPA1 y las secuencias del exón 2 al extremo 3'UTP de los locus DRB1/3/4/5, DQB1 y DPB1 para posteriormente determinar los alelos de HLA Clase I (A, B y C) de cada pareja de donador y receptor.

Genotipificación de receptores KIR

Se realizó la genotipificación de los genes KIR mediante la técnica de SSO (kit comercial, KIR SSO Genotyping Test) que de manera general consta de los siguientes pasos:

1. Amplificación:

- a. Se obtienen tres secuencias utilizando 3 pares de primers diferentes: uno para el exón 3 y 4 (Grupo 1), uno para el exón 5 (Grupo 2) y uno para los exones 7, 8 y 9 (Grupo 3).
- b. El programa de amplificación se encuentra distribuido de la siguiente manera:
 - i. Paso 1: 96°C por 3 minutos (1 ciclo)
 - ii. Paso 2: 96°C por 20 segundos – 60°C por 20 segundos – 72°C por 20 segundos (5 ciclos)
 - iii. Paso 3: 96°C por 10 segundos – 60°C por 15 segundos – 72°C por 20 segundos (30 ciclos)
 - iv. Paso 4: 72°C por 10 minutos (1 ciclo)
 - v. Paso 5: Mantener 4°C (1 ciclo)

2. Desnaturalización y Neutralización.

3. Hibridación.

4. Marcaje y lectura.

Al finalizar, se obtuvieron los genotipos de las muestras de acuerdo con el patrón de lectura arrojado por el equipo.

Operacionalización de las variables

En la tabla 4 se muestra la operacionalización de las diferentes variables que se trabajaron en el estudio.

Tabla 4. Descripción operacionalizada de las variables del estudio

Variable	Tipo de variable	Definición conceptual	Definición operacional	Unidad de medida
Sexo	Categoría nominal dicotómica	Características biológicas y fisiológicas que definen a hombres y mujeres	Sexo biológico del paciente	Femenino Masculino
Edad	Cuantitativa discreta	Tiempo que ha vivido una persona	Años cumplidos a la realización del TCPH	Años
Diagnóstico de base	Categoría nominal dicotómica	Enfermedad, afección o lesión inicial identificada por sus signos y síntomas	Tipo de diagnóstico por el cual entra a protocolo de TCPH	Oncohematológico No Oncohematológico
Tipo de trasplante alogénico	Categoría nominal dicotómica	Relación existente entre el donador y el receptor en un trasplante	El donador para el TCPH fue un familiar o una	Relacionado No Relacionado

			persona no relacionada	
		Complicación		
Enfermedad de injerto contra hospedero		post-TCPH en	Desarrolló o no desarrolló	
	Categórica	la que las	EICH	Si
	nominal	células del	después del	No
	dicotómica	injerto atacan los tejidos del receptor	TCPH	
		Situación en la		
Estado actual	Categórica	que se	El paciente	Vivo
	nominal	encuentra una	actualmente	Fallecido
	dicotómica	persona en este momento	vive o falleció	

Análisis estadístico

Utilizando el programa estadístico SPSS v.29.01, se determinaron las frecuencias haplotípicas y génicas por sexo, diagnóstico de base, estado actual y diagnóstico de EICH en los pacientes con TCPH. También se determinaron las frecuencias génicas presentes en los donadores de células hematopoyéticas. Posteriormente, se realizó la comparación de las frecuencias génicas por diagnóstico de base, estado actual y diagnóstico de EICH utilizando la prueba de chi cuadrada, considerando un resultado estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. La

magnitud de la asociación (Odds Ratio) se determinó por regresión logística binaria con un intervalo de confianza del 95%.

Consideraciones éticas

Se cuenta con una evaluación del protocolo (anexo 1) y el consentimiento informado (anexo 2). Se cumplieron con los principios bioéticos que deben regir toda investigación que involucra sujetos humanos como los que son declarados en: la declaración de Helsinki, Informe Belmont y las Normas y criterios éticos establecidos en los códigos nacionales de ética y/o leyes vigentes.

Resultados

Características de la población

Se estudiaron 36 pacientes pediátricos sometidos a trasplante de células hematopoyéticas en el periodo de 2015 a 2020 en el Hospital Infantil de México Federico Gómez; sus características generales se enlistan en la tabla 5.

Tabla 5. *Características generales de la muestra*

Características		Descripción
Sexo	Masculino	50.0% (n=18)
	Femenino	50.0% (n=18)
Edad	1 a 19 años	7.0 (4.0 – 12.75)
Trasplante alogénico	Relacionado	88.9% (n=32)
	No relacionado	8.3% (n=3)
	Sin Dato	2.8% (n=1)
Diagnóstico de base	Oncohematológico 69.4% (n=25)	LLA: 50% (n=18)
		LGC: 5.6% (n=2)
		LMA: 13.9% (n=5)
	No Oncohematológico 30.6% (n=11)	AA: 16.7% (n=6)
		Osteopetrosis: 2.8% (n=1)
		APSR: 5.6% (n=2)
Desarrollo de EICH	Si No	SM: 2.8% (n=1)
		Drepanocitosis: 2.8% (n=1)
		30.6% (n=11)
		69.4% (n=25)

Estado actual	Vivo	66.7% (n=24)
	Fallecido	33.3% (n=12)

LLA: Leucemia Linfocítica Aguda; LGC: Leucemia Granulocítica crónica; LMA: Leucemia Mieloide Aguda; AA: Anemia aplásica; APSR: Aplasia Pura Serie Roja; SM: Síndrome mielodisplásico.

Haplotipos KIR

En las figuras 5a y 5b se muestran gráficamente los haplotipos encontrados en la población mexicana del Hospital Infantil de México Federico Gómez, tanto de pacientes como de donadores.

Figura 5. Haplotipos KIR

N	Tipo	Haplotipo	3DL1	2DL1	2DL3	2DS4	2DL2	2DL5	3DS1	2DS1	2DS2	2DS3	2DS5	2DL4	3DL2	3DL3	2DP1	3DP1
1	Paciente	A																
2	Paciente	A																
3	Paciente	A																
4	Paciente	A																
5	Paciente	Bx																
6	Paciente	Bx																
7	Paciente	Bx																
8	Paciente	Bx																
9	Paciente	Bx																
10	Paciente	Bx																
11	Paciente	Bx																
12	Paciente	Bx																
13	Paciente	Bx																
14	Paciente	Bx																
15	Paciente	Bx																
16	Paciente	Bx																
17	Paciente	Bx																
18	Paciente	Bx																
19	Paciente	Bx																
20	Paciente	Bx																
21	Paciente	Bx																
22	Paciente	Bx																
23	Paciente	Bx																
24	Paciente	Bx																
25	Paciente	Bx																
26	Paciente	Bx																
27	Paciente	Bx																
28	Paciente	Bx																
29	Paciente	Bx																
30	Paciente	Bx																
31	Paciente	Bx																
32	Paciente	Bx																
33	Paciente	Bx																
34	Paciente	Bx																
35	Paciente	Bx																
36	Paciente	Bx																

Figura 5a. Haplotipos encontrados en pacientes de TCPH del HIMFG

N	Haplotipo	3DL1	2DL1	2DL3	2DS4	2DL2	2DL5	3DS1	2DS1	2DS2	2DS3	2DS5	2DL4	3DL2	3DL3	2DP1	3DP1
1	Donador A																
2	Donador A																
3	Donador A																
4	Donador A																
5	Donador A																
6	Donador A																
7	Donador A																
8	Donador A																
9	Donador A																
10	Donador A																
11	Donador A																
12	Donador Bx																
13	Donador Bx																
14	Donador Bx																
15	Donador Bx																
16	Donador Bx																
17	Donador Bx																
18	Donador Bx																
19	Donador Bx																
20	Donador Bx																
21	Donador Bx																
22	Donador Bx																
23	Donador Bx																
24	Donador Bx																
25	Donador Bx																
26	Donador Bx																
27	Donador Bx																
28	Donador Bx																
29	Donador Bx																
30	Donador Bx																
31	Donador Bx																
32	Donador Bx																
33	Donador Bx																

Figura 5b. Haplotipos encontrados en donadores para TCPH del HIMFG

El porcentaje de las frecuencias para cada haplotipo KIR (A o Bx) en los pacientes se describe en la tabla 6 categorizando por sexo, diagnóstico de base, estado actual del paciente y el desarrollo de EICH post-TCPH.

Tabla 6. Frecuencia de los haplotipos KIR en pacientes con TCPH

Categoría		Frecuencia haplotipo	
		A	Bx
Sexo	Masculino	5.6% (n=1)	94.4% (n=17)
	Femenino	16.7% (n=3)	83.3% (n=15)
Diagnóstico de base	No Oncohematológicas	18.2% (n=2)	81.8% (n=9)
	Oncohematológicas	8.0% (n=2)	92.0% (n=23)
Estado actual	Vivo	8.3% (n=2)	91.7% (n=22)
	Fallecido	16.7% (n=2)	83.3% (n=10)

Diagnóstico de	Si	18.2% (n=2)	81.8% (n=9)
EICH	No	8.0% (n=2)	92.0% (n=23)

Frecuencias génicas KIR

Las frecuencias de cada uno de los genes KIR en los pacientes se muestran categorizando por sexo (figuras 6a), diagnóstico de base (figuras 6b), estado actual (figuras 6c) y diagnóstico de EICH post-TCPH (figuras 6d).

Se observó una mayor frecuencia de los genes *KIR2DL1*, *KIR2DL2* y *KIR2DL5* en los pacientes que desarrollaron EICH después del trasplante con respecto a aquellos que no lo desarrollaron.

Figura 6. Frecuencias génicas KIR

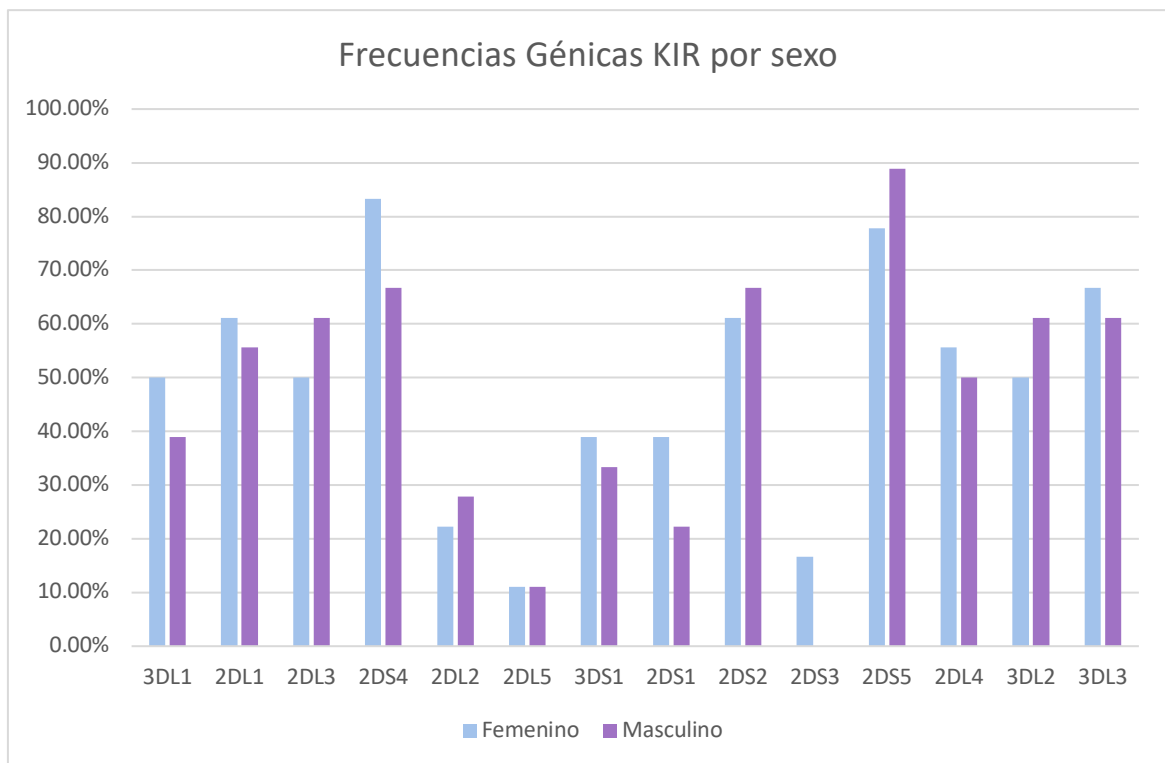


Figura 6a. Frecuencias génicas KIR por sexo

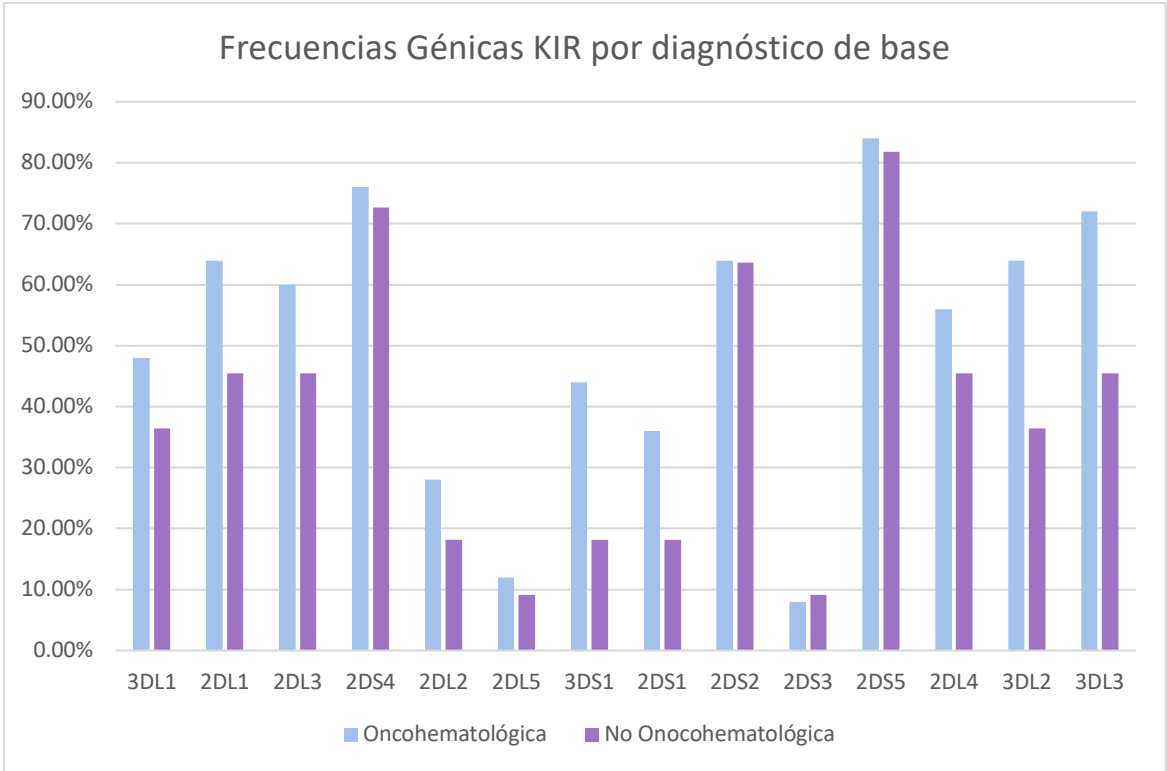


Figura 6b. Frecuencias génicas KIR por diagnóstico de base

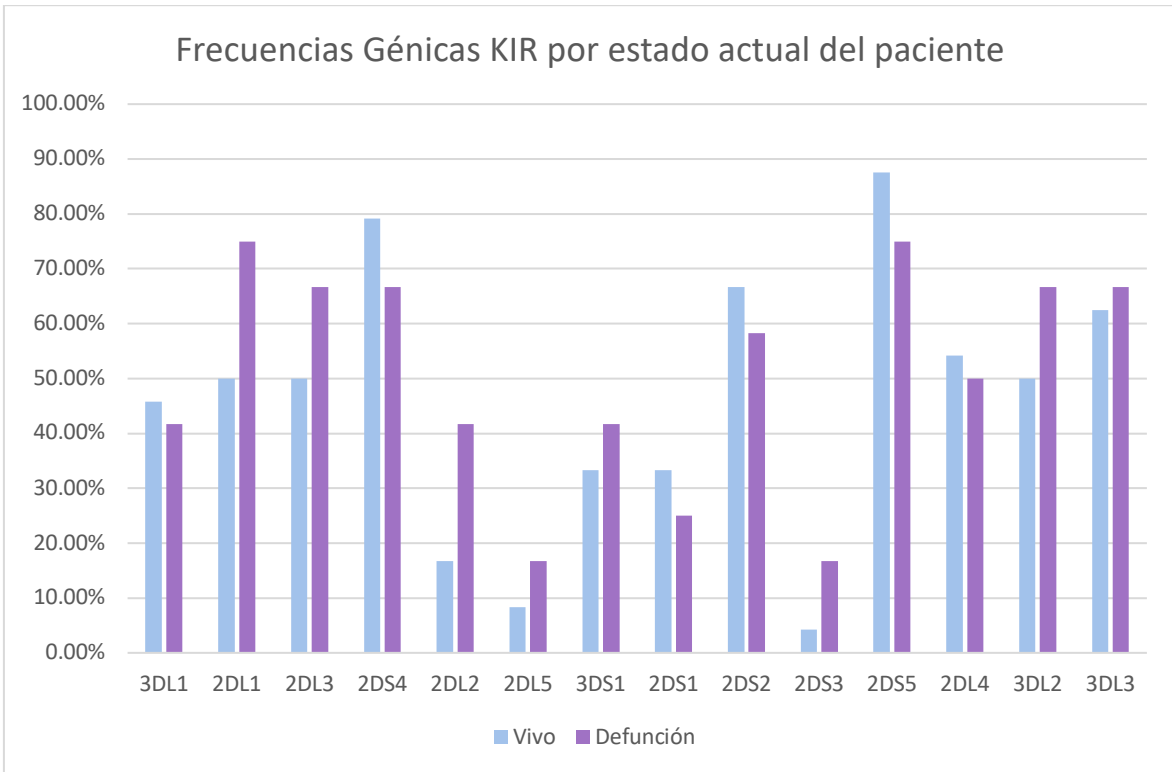


Figura 6c. Frecuencias génicas KIR por estado actual del paciente

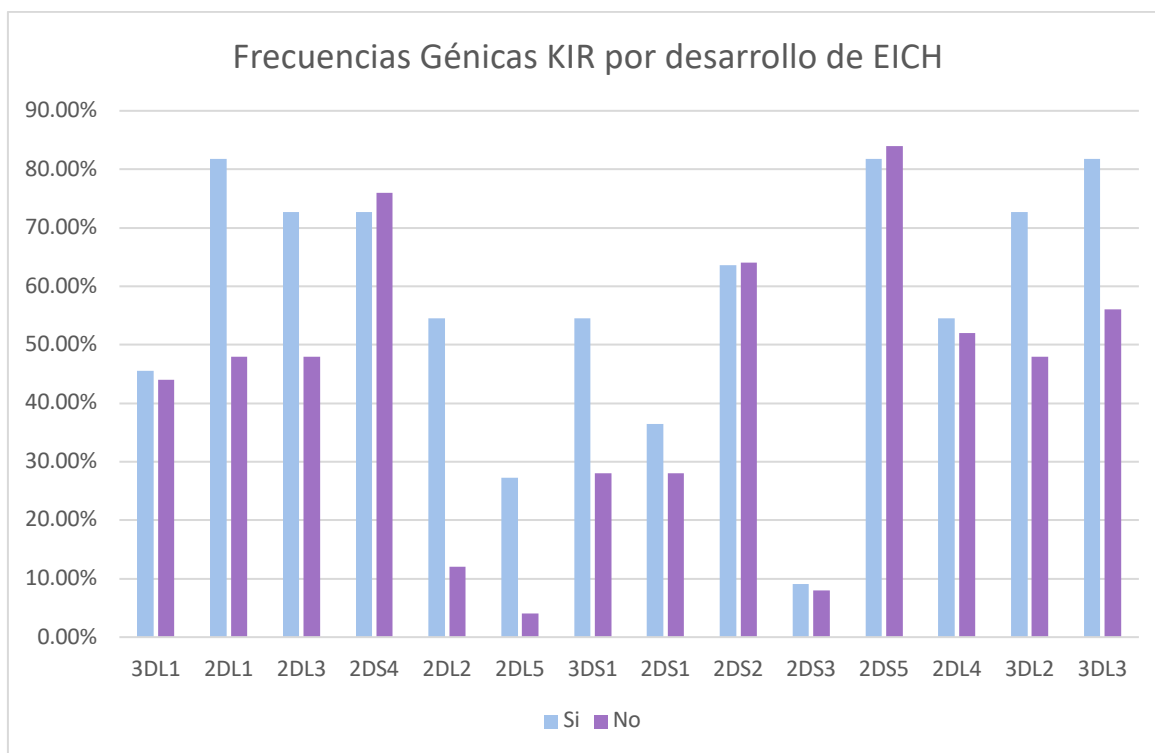


Figura 6d. Frecuencias génicas KIR por desarrollo de EICH

Por otro lado, en la tabla 7 se muestran las frecuencias génicas de KIR en los donadores, siendo los genes *KIR2DS4* y *KIR3DL3* los que se presentan en mayor porcentaje.

Tabla 7. Frecuencia de los genes KIR en donadores para TCPH

Gen	Frecuencia observada
3DL1	44.4% (n=16)
2DL1	58.3% (n=21)
2DL3	47.2% (n=17)
2DS4	66.7% (n=24)
2DL2	27.8% (n=10)
2DL5	8.3% (n=3)
3DS1	27.8% (n=10)

2DS1	22.2% (n=8)
2DS2	47.2% (n=17)
2DS3	5.6% (n=2)
2DS5	55.6% (n=20)
2DL4	58.3% (n=21)
3DL2	55.6% (n=20)
3DL3	75.0% (n=27)

Evaluación de las asociaciones de los genes KIR

Como se muestra en la tabla 8, al realizar la comparación de las frecuencias de los genes KIR entre los pacientes con diagnóstico oncohematológico o no oncohematológico, no se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) para ninguno de los genes.

Tabla 8. Comparación de frecuencias de los genes KIR por diagnóstico de base

Gen	Valor de p	
	Oncohematológica	No Oncohematológica
3DL1	0.299	0.946
2DL1	0.346	0.531
2DL3	0.511	0.946
2DS4	0.650	0.589
2DL2	0.538	0.503
2DL5	0.429	0.999
3DS1	0.535	0.503

2DS1	0.871	0.687
2DS2	0.156	0.946
2DS3	0.942	0.999
2DS5	0.104	0.306
2DL4	0.094	0.531
3DL2	0.972	0.629
3DL3	0.229	0.406

Se presenta el valor de p obtenido en la prueba de chi cuadrada; * se considera significativa $p < 0.05$

Al comparar las frecuencias de los genes KIR de los pacientes que desarrollaron EICH con los que no la desarrollaron, se encontró que existe relación de este suceso únicamente con el gen *KIR2DL2* (tabla 9). Al realizar el análisis entre los pacientes fallecidos y los vivos (estado actual), no se encontró relación de algún gen del receptor con el estado actual del paciente (tabla 9). Sin embargo, al analizar las frecuencias de los genes del donador entre estos mismos grupos, se encontró que existe relación entre los genes *KIR2DS4* y *KIR3DL3* y el estado actual del paciente (tabla 10).

Tabla 9. Comparación de frecuencias de los genes KIR del receptor por desarrollo de EICH y estado actual

Gen	Valor de p	
	Desarrollo de EICH	Estado actual
3DL1	0.936	0.813
2DL1	0.071	0.160
2DL3	0.177	0.346

2DS4	0.835	0.418
2DL2	0.012*	0.112
2DL5	0.073	0.461
3DS1	0.134	0.624
2DS1	0.617	0.610
2DS2	0.983	0.624
2DS3	0.913	0.234
2DS5	0.872	0.351
2DL4	0.888	0.813
3DL2	0.177	0.346
3DL3	0.151	0.806

Se presenta el valor de p obtenido en la prueba de chi cuadrada; * se considera significativa $p < 0.05$

Tabla 10. Comparación de frecuencias de los genes *KIR* del donador con desarrollo de *EICH* y estado actual

Gen	Valor de p	
	Desarrollo de EICH	Estado actual
3DL1	0.620	0.522
2DL1	0.825	0.775
2DL3	0.293	0.522
2DS4	0.633	0.010*
2DL2	0.539	0.427
2DL5	0.147	0.187
3DS1	0.817	0.427

2DS1	0.868	0.232
2DS2	0.209	0.386
2DS3	0.999	0.999
2DS5	0.059	0.118
2DL4	0.825	0.775
3DL2	0.663	0.146
3DL3	0.182	0.048*

Se presenta el valor de p obtenido en la prueba de chi cuadrada; * se considera significativa $p < 0.05$

La magnitud de la asociación se determinó por regresión logística, el odds ratio obtenido para la asociación entre el gen *KIR2DL2* del paciente y la EICH se muestra en la tabla 11, mientras que los odds ratio obtenidos para la asociación entre los genes *KIR2DS4* y *KIR3DL3* del donador y el estado actual del paciente se muestran en la tabla 12.

Tabla 11. Asociación entre los genes *KIR* del receptor y el desarrollo de EICH

Gen	Exp(B)	Intervalo de confianza	Valor p
2DL2	8.800	1.620 – 47.798	0.012

Se presenta el valor de Odds ratio para cada gen con el que se encontró asociación obtenido por regresión logística binaria y considerando significativo $p < 0.05$

Tabla 12. Asociación entre los genes *KIR* del donador y el estado actual

Gen	Exp(B)	Intervalo de confianza	Valor p
2DS4	0.100	0.017 – 0.577	0.010
3DL3	0.143	0.021 – 0.979	0.048

Se presenta el valor de Odds ratio para cada gen con el que se encontró asociación obtenido por regresión logística binaria y considerando significativo $p < 0.05$

Discusión

Se ha observado en diferentes estudios que los receptores KIR pueden tener una participación activa en el desarrollo de la EICH, una de las principales complicaciones que presentan los pacientes sometidos a trasplante de células hematopoyéticas.

Al identificar los haplotipos KIR presentes en la muestra estudiada, considerando tanto pacientes como donadores, se observó que el haplotipo que predomina mayoritariamente en la población mexicana que acude al HIMFG para la realización de un TCPH es el Bx, información que se encuentra en concordancia con la reportada en la Lista de Genotipos de Referencia KIR (Allele Frequency Net Database, 2022).

En el presente estudio se observó que la presencia del gen *KIR2DL2* en el genotipo del receptor se encuentra asociado a una mayor probabilidad de desarrollar EICH. En contra parte, un estudio realizado en pacientes de la Unidad de Hematología del Hospital de la Universidad de Nantes en Francia reveló que los pacientes trasplantados con células de un donador que en su genotipo KIR presentaba el gen *KIR2DL2* se asociaba a una mayor incidencia de EICH cuando el paciente presentaba ausencia del correspondiente ligando HLA (Willem et al., 2019).

Se conoce que los ligandos HLA que son reconocidos por el gen *KIR2DL2* pertenecen al grupo de HLA-C1, dentro del cual se encuentran alelos como el HLA-Cw*02, HLA-Cw*04, HLA-Cw*05, y HLA-Cw*06 (Dębska-Zielkowska et al., 2021; Pende et al., 2019). Al ser estos reconocidos por el receptor *KIR2DL2* se generará una respuesta que favorecerá la inactivación de las células NK; sin embargo, la

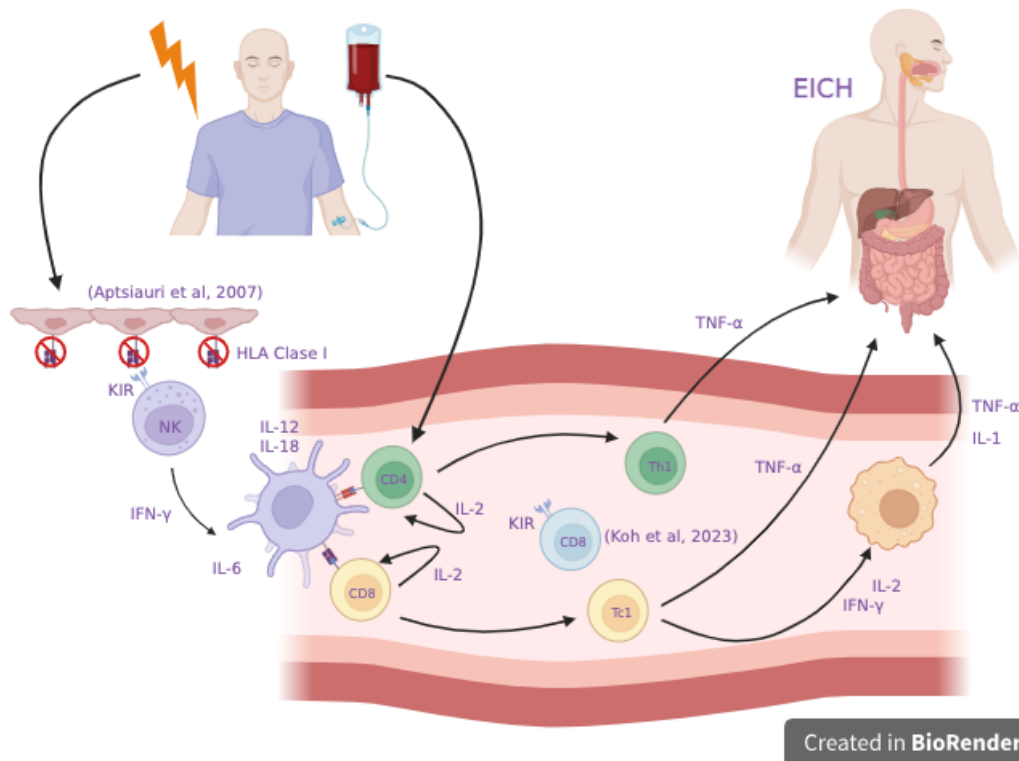
ausencia de estos alelos podría ocasionar el daño a los tejidos cuando se encuentra presente dicho receptor. Una limitante del estudio fue la imposibilidad de tener acceso a los haplotipos HLA de los pacientes que conformaron la muestra, por lo que la determinación de una posible asociación entre las incompatibilidades HLA y los genes KIR no pudo ser realizada.

Por otro lado, diversos estudios han evaluado y demostrado la participación de los genes *KIR* en el desarrollo de múltiples enfermedades inflamatorias y autoinmunes. Particularmente, el gen *KIR2DL2* ha sido encontrado como factor de riesgo al desarrollo de enfermedades autoinmunes como la diabetes mellitus tipo I y la trombocitopenia inmune (Soltani et al., 2020; Nourse et al., 2012). Estos hallazgos refuerzan la participación de estos genes en procesos inmunes como lo es la EICH.

Para poder relacionar la participación del gen *KIR2DL2* con el desarrollo de la EICH, se ha propuesto un mecanismo mediante el cual las células NK podrían estar involucradas en el desarrollo dicha patología (figura 7).

Por otro lado, se observó que los genes *KIR2DS4* y *KIR3DL3* cuando están presentes en el donador representan un factor protector contra un desenlace fatal post-TCPH. Investigaciones realizadas en poblaciones europeas han demostrado que la realización de TCPH a partir de donadores que presentan la variante trunca del gen *KIR2DS4* conlleva a un mejor desenlace del paciente (Burek et al., 2017; Gowdavally et al., 2023). Esto podría corresponder con los resultados encontrados en este estudio si se considerara que dicha variante es la que se encuentra presente en la población estudiada; sin embargo, sería necesario determinarla específicamente para corroborar dicha posibilidad.

Figura 7. Mecanismo propuesto para el desarrollo de EICH



Nota: El régimen de acondicionamiento al que es sometido el paciente previo a un TCPH, ocasiona un daño en los tejidos que provoca la supresión de moléculas de HLA en su superficie (Aptsiauri et al, 2007) y con ello la activación de las células NK del paciente. La liberación de IFN- γ junto con otras citocinas por la NK, favorece la actividad de las células presentadoras de antígeno del paciente, activando a las células T competentes del donador que fueron infundidas junto con las células troncales hematopoyéticas. La activación de macrófagos por la liberación de IL-2 e IFN- γ por las células Tc1 y la liberación del TNF- α por parte de las células Th1, Tc1 y los macrófagos ocasiona el daño en los tejidos asociado al desarrollo de la EICH. Es importante recordar que los receptores KIR no son los únicos presentes en las células NK, por lo que pueden no ser los únicos involucrados en el desarrollo de

EICH. Otro estudio ha sugerido que el receptor NKp46 podría también estar involucrado en el daño a tejidos que caracteriza a la EICH al estar ausente en las células NK del donador (Simonetta et al., 2017).

Cabe mencionar que los receptores KIR no son únicamente expresados por las células NK, sino también por células T. Se ha visto que estos también pueden ser expresados por algunas subpoblaciones de linfocitos T CD8+ senescentes en las que participan disminuyendo la actividad citotóxica de dichas células y en la regulación de la respuesta inmune (Koh et al., 2023). Por lo anterior, al no haber realizado una separación de las células NK previa de la genotipificación de los genes *KIR*, existe la posibilidad de que los resultados puedan corresponder a células T.

Finalmente, la fuerza con la que las células NK son activadas o inhibidas se encuentra estrechamente relacionada con la expresión de los receptores en la membrana celular. Esta expresión puede verse afectada o favorecida por diferentes mecanismos moleculares y genéticos como lo son la inhibición en la metilación del DNA, que se ha visto aumenta su expresión en las células T, o los mismos polimorfismos de los alelos pueden influir en la cantidad de receptores que se expresan en la célula (McErlean et al., 2010; Liu et al., 2009). Por ello, al conocer que existe una asociación entre el gen *KIR2DL2* con el desarrollo de EICH y los genes *KIR2DS4* y *KIR3DL3* con un desenlace favorable post-TCPH, sería importante profundizar en el estudio de la expresión de estos genes para complementar los resultados encontrados.

Conclusiones

La EICH es una de las complicaciones que se observan más frecuentemente después de un TCPH, presentándose en el 30.6% de los pacientes estudiados; por lo que la evaluación de los genes *KIR* permitió establecer su relación con el desarrollo de dicha complicación.

La presencia del gen *KIR2DL2* en el genotipo KIR del paciente se encuentra asociada con el desarrollo de EICH tras un TCPH alogénico en pacientes pediátricos. Por otro lado, los genes *KIR2DS4* y *KIR3DL3* presentes en el genotipo de los donadores confieren un factor de protección ante un desenlace fatal post-trasplante de células hematopoyéticas. Sin embargo, es necesario aumentar la cantidad de muestra para confirmar la presencia de otras posibles asociaciones.

Por lo anterior, y al ser un grupo de receptores altamente polimórfico, la genotipificación de los receptores KIR debería ser considerada dentro de las pruebas necesarias para la selección de los donadores de células hematopoyéticas.

Perspectivas

Los resultados obtenidos en el presente estudio ofrecen una base para la realización de nuevas investigaciones que contribuyan en el esclarecimiento de la participación de los genes *KIR* en el desarrollo de la EICH y el desenlace post trasplante de los pacientes sometidos a un TCPH. Para ello, se vuelve necesaria la realización de estudios que evalúen la expresión de los diferentes receptores KIR en las células NK; ya que al ser un grupo de genes altamente polimórficos, pueden encontrarse distintos niveles de expresión, repercutiendo así en la respuesta inhibitoria o activadora de estas células y por ende en el desarrollo o resistencia de la EICH.

Referencias

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. (2018) Inmunidad Innata en Inmunología celular y molecular (Novena ed., pp. 56-95). ElSevier.
- Allele Frequency Net Database. (2022) KIR Genotype Reference List. Recuperado de http://www.allelefrequencies.net/kir6001a.asp?kgen_pop_selection=&kgen_group=&kgen_id=&kgen_country=Mexico&kgen_pops_pattern=equal&kgen_pops=&kgen_dataset=&kgen_region=&kgen_ethnic=&kgen_study=&kgen_order=order_1&3DL1=&2DL1=&2DL3=&2DS4=&2DL2=&2DL5=&3DS1=&2DS1=&2DS2=&2DS3=&2DS5=&2DL4=&3DL2=&3DL3=&2DP1=&3DP1=
- An, K., Li, B., Luo, C., Wang, J., Luo, C., & Chen, J. (2020). The impact of donor full-length KIR2DS4 in the development of acute and chronic GVHD after unrelated allogeneic HSCT. *Pediatric transplantation*, 24(6), e13728. <https://doi.org/10.1111/petr.13728>
- Aptsiauri, N., Cabrera, T., Garcia-Lora, A., Lopez-Nevot, M. A., Ruiz-Cabello, F., & Garrido, F. (2007). MHC Class I Antigens and Immune Surveillance in Transformed Cells. *International Review of Cytology*, 139–189. doi:10.1016/s0074-7696(07)56005-5
- Bacigalupo, A., Ballen, K., Rizzo, D., Blaise, D., Lowski, R., Horowitz, M. (2009) Defining the intensity of Conditioning Regimens: Working Definitions. *Transplantation and Cellular Therapy*, 15(12), 1628-1633. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2009.07.004>
- Berlingerio, M., Bonchi, F., Curcio, M., Giannotti, F., & Turini, F. (2009). Mining Clinical, Immunological, and Genetic Data of Solid Organ Transplantation.

Studies in Computational Intelligence, 211–236. doi:10.1007/978-3-642-02193-0_9

Burek Kamenaric, M., Stingl Jankovic, K., Grubic, Z., Serventi Seiwert, R., Maskalan, M., Nemet, D., Mikulic, M., & Zunec, R. (2017). The impact of KIR2DS4 gene on clinical outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Human immunology*, 78(2), 95–102.

<https://doi.org/10.1016/j.humimm.2016.11.010>

Campbell, KS., Purdy, AK. (2011) Structure/function of human killer cell immunoglobulin-like receptors: Lessons from polymorphisms, evolution, crystal structures and mutations. *Immunology*, 132(3).

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2010.03398.x>

Dębska-Zielkowska, J., Moszkowska, G., Zieliński, M., Zielińska, H., Dukat-Mazurek, A., Trzonkowski, P., & Stefańska, K. (2021). KIR Receptors as Key Regulators of NK Cells Activity in Health and Disease. *Cells*, 10(7), 1777.

MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cells10071777>

Díaz, P. (2023) ¿Cuánto cuesta realizar un trasplante de médula ósea? ElHospital.

<https://www.elhospital.com/es/noticias/cuanto-cuesta-realizar-un-trasplante-de-medula-osea-en-mexico>

Domínguez, M., Romero, H., Rodríguez, J.C. (2015) Células Madre Hematopoyéticas: origen, diferenciación y función. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 15(1), 30-37.

<https://www.mediagraphic.com/pdfs/veracruzana/muv-2015/muv151d.pdf>

Fathollahi, A., Aslani, S., Mostafaei, S., Rezaei, N., & Mahmoudi, M. (2018). The role of killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genes in susceptibility to

- inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Inflammation research*. Official journal of the European Histamine Research Society, 67(9), 727–736. <https://doi.org/10.1007/s00011-018-1162-7>
- Flowers, M., Inamoto, Y., Carpenter, P., Lee, S., Kiem, H., Petersdorf, E., Pereira, S., Nash, R., Mielcarek, M., Fero, M., Warren, E., Sanders, J., Storb, R., Appelbaum, F., Storer, B., Martin, P. (2011) Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood*; 117 (11): 3214–3219. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2010-08-302109>
- Gao Fei, Ye Yishan, Gao Yang, Huang He, Zhao Yanmin. (2020). Influence of KIR and NK Cell Reconstitution in the Outcomes of Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Frontiers in Immunology*, 11. DOI=10.3389/fimmu.2020.02022
- Gaytán, F. (2013) Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) en Pediatría. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 12(3), 174-181. <https://biblat.unam.mx/hevila/Gacetamexicanadeoncologia/2013/vol12/no3/7.pdf>
- Ghannad, M.S., Hajilooi, M., Solgi, S. (2014). HLA-KIR Interactions and Immunity to Viral Infections. *Reserch in Molecular Medicine*, 2(1), 1-20. DOI: 10.18869/acadpub.rmm.2.1.1
- Gowdavally, S., Tsamadou, C., Platzbecker, U., Sala, E., Valerius, T., Klein, S., Kröger, N., Wulf, G., Einsele, H., Thurner, L., Schaefer-Eckart, K., Freitag, S., Casper, J., Dürholt, M., Kaufmann, M., Hertenstein, B., Ringhoffer, M., Schmeller, S., Neuchel, C., Rode, I., ... Fuerst, D. (2023). KIR2DS4 and Its

Variant KIR1D in KIR-AA Genotype Donors Showed Differential Survival Impact in Patients with Lymphoid Disease after HLA-Matched Unrelated Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Transplantation and cellular therapy*, 29(7), 457.e1–457.e10. <https://doi.org/10.1016/j.jtct.2023.04.006>

Graciano, O., Alvarado, A., Ramírez-, M. G., Villanueva, D. G., Velarde, E. E., Machado, A. C., Montoya, M., & Sánchez, P. E. (2020). Diversity of KIR/HLA Genotypes and Their Association with Psoriasis Vulgaris in the Western Mexican Population. *Genes*, 11(3), 338. <https://doi.org/10.3390/genes11030338>

Guarín, A.P., Mora, G.E., Pedraza, E., Figueroa, J.L., Peña, O.J., López, M.J., Pinzón, P.L., Lamadrid, C.A., López, G.A., Villamizar, F.L., Gómez, C.F., Gómez, M.E., Ardila, S.F. y Esguerra, H. (2023). Incidencia de la enfermedad injerto contra huésped aguda en los pacientes con trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos de donante HLA idéntico intrafamiliar en un centro hospitalario. *Revista Colombiana de Cancerología*. 27, 2 (jun. 2023), 251–259. DOI:<https://doi.org/10.35509/01239015.893>.

Hajeer, A., Jawdat, D., Massadeh, S., Aljawini, N., Abedalthagafi, M. S., Arabi, Y. M., & Alaamery, M. (2022). Association of KIR gene polymorphisms with COVID-19 disease. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 234, 108911. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2021.108911>

Heatley, S. L., Mullighan, C. G., Doherty, K., Danner, S., O'Connor, G. M., Hahn, U., Szer, J., Schwarzer, A., Bradstock, K., Sullivan, L. C., Bardy, P. G., & Brooks, A. G. (2018). Activating KIR Haplotype Influences Clinical Outcome Following HLA-Matched Sibling Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *HLA*,

10.1111/tan.13327. Advance online publication.

<https://doi.org/10.1111/tan.13327>

Hill, G., Betts, B., Tkachev, V., Kean, L., and Blazar, B. (2021) Current Concepts and Advances in Graft-Versus-Host Disease Immunology. *Annual Review of Immunology*, 39, 19-49.

<https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-immunol-102119-073227>

Hong, S., Rybicki, L., Zhang, A., Thomas, D., Kerr, C. M., Durrani, J., Rainey, M. A., Mian, A., Behera, T. R., Carraway, H. E., Nazha, A., Mukherjee, S., Advani, A. S., Patel, B., Kalaycio, M., Bolwell, B. J., Hanna, R., Gerds, A. T., Pohlman, B., Hamilton, B. K., ... Sobecks, R. (2021). Influence of Killer Immunoglobulin-Like Receptors and Somatic Mutations on Transplant Outcomes in Acute Myeloid Leukemia. *Transplantation and cellular therapy*, 27(11), 917.e1–917.e9. <https://doi.org/10.1016/j.jtct.2021.08.002>

Hosokai, R., Masuko, M., Shibasaki, Y., Saitoh, A., Furukawa, T., & Imai, C. (2017). Donor Killer Immunoglobulin-Like Receptor Haplotype B/x Induces Severe Acute Graft-versus-Host Disease in the Presence of Human Leukocyte Antigen Mismatch in T Cell-Replete Hematopoietic Cell Transplantation. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*, 23(4), 606–611. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2016.12.638>

Jaime, J., Dorticós, E., Pavón, V., Cortina, L. (2004) Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas: tipos, fuentes e indicaciones. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 20(2).

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-

[02892004000200002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200002)

Jaramillo, C.M, Consuelo, A., Acosta, C.P., Ramón, G., Sadowinski, S.W., Escobar-M.A., Castorena, I., Gaytán, F., Vázquez, R. (2018) Enfermedad de injerto contra huésped gastrointestinal y hepático en pacientes pediátricos con trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. *Revista de Gastroenterología de México*, 83(4), 385-392.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0375090618300326>

Justiz AA, Modi P, Mohammadi O. Graft-Versus-Host Disease. [Actualizado 2022 Oct 10]. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538235/#>

Koh JY, Kim DU, Moon BH, Shin EC. (2023) Human CD8+ T-Cell Populations That Express Natural Killer Receptors. *Immune Netw*; 23(1).

<https://doi.org/10.4110/in.2023.23.e8>

Liang, H. L., Ma, S. J., & Tan, H. Z. (2017). Association between killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) polymorphisms and systemic lupus erythematosus (SLE) in populations: A PRISMA-compliant meta-analysis. *Medicine*, 96(10), e6166. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000006166>

Liu, Y., Kuick, R., Hanash, S., & Richardson, B. (2009). DNA methylation inhibition increases T cell KIR expression through effects on both promoter methylation and transcription factors. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 130(2), 213–224. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2008.08.009>

- Lum, S.H., Hoenig, M., Gennery, A.R., Slatter, M.A. (2019) Conditioning Regimens for Hematopoietic Cell Transplantation in Primary Immunodeficiency. *Curr Allergy Asthma Rep* 19, 52. <https://doi.org/10.1007/s11882-019-0883-1>
- McErlean, C., Gonzalez, A. A., Cunningham, R., Meenagh, A., Shovlin, T., & Middleton, D. (2010). Differential RNA expression of KIR alleles. *Immunogenetics*, 62(7), 431–440. <https://doi.org/10.1007/s00251-010-0449-9>
- Nourse, J. P., Lea, R., Crooks, P., Wright, G., Tran, H., Catalano, J., Brighton, T., Grigg, A., Marlton, P., & Gandhi, M. K. (2012). The KIR2DS2/DL2 genotype is associated with adult persistent/chronic and relapsed immune thrombocytopenia independently of FCGR3a-158 polymorphisms. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*, 23(1), 45–50. <https://doi.org/10.1097/MBC.0b013e32834d7ce3>
- Pende, D., Falco, M., Vitale, M., Cantoni, C., Vitale, C., Munari, E., Bertaina, A., Moretta, F., Del Zotto, G., Pietra, G., Mingari, M. C., Locatelli, F., Moretta, L. (2019) Killer Ig-Like Receptors (KIRs): Their Role in NK Cell Modulation and Developments Leading to Their Clinical Exploitation. *Frontiers in Immunology*, 10. DOI=10.3389/fimmu.2019.01179
- Ramachandran, V., Kolli, S. S., & Strowd, L. C. (2019). Review of Graft-Versus-Host Disease. *Dermatologic Clinics*. doi:10.1016/j.det.2019.05.014
- Rezaei, R., Mostafaei, S., Aslani, S., Jamshidi, A., & Mahmoudi, M. (2018). Association study between killer immunoglobulin-like receptor polymorphisms and ankylosing spondylitis disease: An updated meta-

analysis. *International journal of rheumatic diseases*, 21(10), 1746–1755.

<https://doi.org/10.1111/1756-185X.13408>

Saad, A., Loren, A., Bolaños-Meade, J., Chen, G., Couriel, D., Di Stasi, A., El-Jawahri, A., Elmariah, H., Farag, S., Gundabolu, K., Gutman, J., Ho, V., Hoeg, R., Horwitz, M., Hsu, J., Kassim, A., Kharfan Dabaja, M., Magenau, J., Martin, T., Mielcarek, M., ... Pluchino, L. A. (2023). NCCN Guidelines® Insights: Hematopoietic Cell Transplantation, Version 3.2022. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*, 21(2), 108–115. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2023.0007>

Sahin, U., Dalva, K., Gungor, F., Ustun, C., & Beksac, M. (2018). Donor-recipient killer immunoglobulin like receptor (KIR) genotype matching has a protective effect on chronic graft versus host disease and relapse incidence following HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Annals of Hematology*, 97(6), 1027–1039. doi:10.1007/s00277-018-3274-0

Sala Elpidio, L. N., de Alencar, J. B., Tsuneto, P. Y., Alves, H. V., Trento Toretta, M., It Taura, S. K., Laguila Visentainer, J. E., & Sell, A. M. (2018). Killer-cell immunoglobulin-like receptors associated with polycystic ovary syndrome. *Journal of reproductive immunology*, 130, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2018.08.003>

Samarani, S., Mack, D. R., Bernstein, C. N., Iannello, A., Debbeche, O., Jantchou, P., Faure, C., Deslandres, C., Amre, D. K., & Ahmad, A. (2019). Activating Killer-cell Immunoglobulin-like Receptor genes confer risk for Crohn's disease in children and adults of the Western European descent: Findings

based on case-control studies. PloS one, 14(6), e0217767.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217767>

Secretaría de Salud, Asociación Mexicana de Medicina Transfusional A.C.,
Agrupación Mexicana para el estudio de la Hematología A.C. (2007) Guía
para el uso Clínico de la Sangre. 3ª Ed.

<https://www.ammtac.org/docs/GuiasTransfusion/GuiaParaEIUsoClinicoDeLaSangre.pdf>

Simonetta, F., Alvarez, M., & Negrin, R. S. (2017). Natural Killer Cells in Graft-versus-Host-Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Frontiers in immunology*, 8, 465. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00465>

Sivori, S., Vacca, P., Del Zotto, G., Munari, E., Mingari, M. C., & Moretta, L. (2019). Human NK cells: surface receptors, inhibitory checkpoints, and translational applications. *Cellular & Molecular Immunology*. doi:10.1038/s41423-019-0206-4

Soltani, S., Mostafaei, S., Aslani, S., Farhadi, E., & Mahmoudi, M. (2020). Association of KIR gene polymorphisms with Type 1 Diabetes: a meta-analysis. *Journal of diabetes and metabolic disorders*, 19(2), 1777–1786. <https://doi.org/10.1007/s40200-020-00569-2>

Soto, L., Sarmiento, L. (2019) Utilidad e importancia del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas de sangre de cordón umbilical en niños con leucemia linfoblástica aguda (Revisión documental) [Tesis] <https://repositorio.unicolmayor.edu.co/bitstream/handle/unicolmayor/3742/Tesis.%20Entrega%20Final%20L.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Torío, A., Pascual, M. J., Vidales, I., Ortiz, M., Caballero, A., & Heiniger, A. I. (2018). Donor Selection Based on Killer Cell Immunoglobulin–Like Receptor (KIR) Genotype May Improve Outcome After T-Cell–Replete Haploidentical Transplantation. *Transplantation Proceedings*, 50(2), 679–682. doi:10.1016/j.transproceed.2017.09.070
- Trujillo, Y., Arce, S., Viguera, R., Martínez, I., White, V. (2018) El complejo mayor de histocompatibilidad. Organización genética, estructura, localización y función. *Panorama. Cuba y Salud*, 13(1), 53-57. <https://www.medigraphic.com/pdfs/cubaysalud/pcs-2018/pcs181i.pdf>
- Willem, C., Roméo Makanga, D., Guillaume, T., Maniangou, B., Legrand, N., Gagne, K., Peterlin, P., Garnier, A., Béné, M.C., Cesbron, A., Le Bourgeois, A., Chevallier, P., Retière, C. (2019) Impact of KIR/HLA Incompatibilities on NK Cell Reconstitution and Clinical Outcome after T Cell–Replete Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation with Posttransplant Cyclophosphamide. *J Immunol*; 202(7): 2141–2152. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1801489>
- Ying Li, Tian Wang, Xing Hu, Huanhuan Zhang, Xiaojing Bao, Depei Wu, Jun He. (2021) Dynamic mRNA expression of donor-derived activating KIR genes and their significant effects on clinical outcome after haematopoietic stem cell transplantation, *Clinical and Experimental Immunology*, 205(3), 417–428, <https://doi.org/10.1111/cei.13631>
- Zhang, Y., Zheng, H., Ren, J., Luo, X., Zheng, Z., Zheng, J., ... Yang, T. (2021). Mesenchymal stem cells enhance the impact of KIR receptor-ligand mismatching on acute graft-versus-host disease following allogeneic

hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia but not in those with acute lymphocytic leukemia. *Hematological Oncology*, 39(3), 380–389. doi:10.1002/hon.2867

Anexos

Anexo 1. Evaluación de protocolo



Ciudad de México 15 de noviembre del 2023

Hospital Infantil de México Federico Gómez
Instituto Nacional de Salud

Departamento de Laboratorio Clínico

2520/ 734 /2023

Asunto: Solicitud de evaluación de protocolo

DR. MIGUEL KLÜNDER KLÜNDER
SUBDIRECTOR DE INVESTIGACIÓN
PRESENTE

Por medio de la presente le solicito a usted se someta a valoración por parte de los comités de investigación, ética y bioseguridad el protocolo: **“Evaluación de la asociación entre los genes *kir* y la enfermedad de injerto contra hospedero en pacientes pediátricos con trasplante de células hematopoyéticas”**

Investigador Principal: M en C Israel Parra Ortega¹

Investigador Suplente: M en C Tania Angeles Floriano²

Investigadores Asociados: Dr. José Félix Gaytán Morales³, M en C Armando Vilchis Ordóñez⁴.

¹Jefatura del Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

^{2,4}Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

³Jefatura de la Unidad de Trasplante de Médula Ósea, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Financiamiento: Ninguno

Se enlistan los documentos a evaluar:

- Anexo 1. Formato de solicitud de evaluación de proyectos
- Anexo 2. Cronograma del estudio
- Anexo 3. Guía para la evaluación de las consideraciones éticas
- Anexo 4. Formato del comité de bioseguridad

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente


M. en C. ISRAEL PARRA ORTEGA.
Jefe del Departamento de Laboratorio Clínico

Dr. Márquez 162, Col. Doctores, C.P. 06720, Alcaldía Cuauhtémoc, Ciudad de México
Tel: (52) 5552289917 Ext. 2280 y 9108. www.himfg.edu.mx



Anexo 2. Consentimiento informado



El investigador incluirá a todos los pacientes que han sido sometidos a trasplante de células madre durante el periodo de 2015 a 2020.

3.-¿CUÁLES SON LOS REQUISITOS QUE SE TOMARÁN EN CUENTA PARA MI PARTICIPACIÓN?

Los criterios de inclusión y de exclusión son los siguientes:

- Criterios de inclusión:
 1. Parejas de receptor-donador que se hayan sometido a trasplante de células hematopoyéticas en el periodo de 2015 a 2020 en el Hospital Infantil de México.
 2. Contar con la firma del consentimiento informado por parte del receptor y donador.
- Criterios de exclusión:
 1. Falta de información en el expediente clínico relativa al desarrollo de la enfermedad de injerto contra hospederio o al estado actual del paciente.
 2. Ausencia de la muestra pre-trasplante de DNA del receptor y/o del donador.
 3. Que no se cuente con la firma del consentimiento informado del receptor y/o del donador.

4.-¿CUÁL ES EL TRATAMIENTO DEL ESTUDIO?

Si usted decide que su hijo participe en este estudio de investigación no recibirá ningún tratamiento.

5.-¿CUÁLES SON LOS PROCEDIMIENTOS QUE SE ME REALIZARÁN?

No se realizará ningún procedimiento a su hijo.

6.-¿QUÉ VA A HACER SI USTED DECIDE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Si usted da su consentimiento para que su hijo participe, no se requiere que usted realice ninguna actividad. El investigador obtendrá los datos del expediente clínico y/o bases de datos.

7.-¿CUÁLES SON LOS POSIBLES RIESGOS O MOLESTIAS?

Este estudio no tiene implicados riesgos o molestias, ya que no se realizarán procedimientos. Todos los datos serán obtenidos del expediente clínico y/o bases de datos.

8.-¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS PARA USTED O PARA OTROS?

Es probable que usted o su hijo no tenga un beneficio directo por la participación de su hijo en este estudio de investigación.



FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio	"Evaluación de la asociación entre los genes KIR y la enfermedad de injerto contra hospederio en pacientes pediátricos con trasplantes de células hematopoyéticas".
Nombre del Investigador Principal	M. en C. Israel Parra Ortega
Servicio / Departamento	Departamento de Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de México Federico Gómez.
Teléfono de Contacto	55 52 28 99 17 Ext. 2280
Persona de Contacto	M. en C. Israel Parra Ortega
Versión de Documento	1.0
Fecha de Documento	14 de agosto del 2023

Su hijo ha sido invitado(a) a participar en un estudio de investigación. Este documento contiene información importante acerca del propósito del estudio, lo que Usted hará si decide participar, y la forma en que nos gustaría utilizar su información personal y la de su salud.

Puede contener palabras que Usted no entienda. Por favor solicite a su médico o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara.

1.-¿CUÁL ES EL PROPÓSITO DEL ESTUDIO?

La enfermedad de injerto contra hospederio (EICH) es considerada una de las complicaciones más frecuentes de los trasplantes de células hematopoyéticas, asociándose a una de las principales causas de la pérdida del trasplante y mortalidad en estos pacientes. Además, el desarrollo de EICH genera estancias hospitalarias prolongadas y, con ello, un aumento en los costos de atención médica.

Por ello, el conocimiento y determinación de factores que puedan estar asociados con el desarrollo de este padecimiento, puede brindar información importante que sirva como base para que en un futuro pueda realizarse una selección del donador más minuciosa, así como predecir el desarrollo de EICH e incrementar la posibilidad de éxito del trasplante.

2.-¿CUÁL SERÁ LA DURACIÓN DEL ESTUDIO Y CUÁNTOS PARTICIPANTES HABRÁ EN ESTE ESTUDIO?

La duración total del estudio será de 3 meses.



16.- ¿PUEDE TERMINAR SU PARTICIPACIÓN EN CUALQUIER MOMENTO DEL ESTUDIO?

La participación de su hijo es estrictamente voluntaria. Si desea suspender la participación de su hijo en este estudio, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige que su hijo no participe o retirarse del estudio, la atención médica presente y/o futura de su hijo no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que su hijo tendría derecho de algún otro modo.

La participación de su hijo también podrá ser suspendida o terminada por el personal del estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias:

- Que el estudio haya sido cancelado.
 - Que el personal considere que es lo mejor para su hijo.
 - Que su hijo necesite algún procedimiento o medicamento que interfiera con esta investigación.
- Si Usted decide retirar a su hijo de este estudio, deberá realizar lo siguiente:
- Notificar al personal del estudio

Si la participación de su hijo en el estudio se da por terminada, por cualquier razón, por la seguridad de su hijo, el médico continuará con seguimientos clínicos. Además, la información médica recibida hasta ese momento podrá ser utilizada para fines de la investigación.

17.- ¿CÓMO SE PROTEGERÁ LA CONFIDENCIALIDAD DE SUS DATOS PERSONALES Y LA INFORMACIÓN DE SU EXPEDIENTE CLÍNICO?

Si acepta que su hijo participe en la investigación, el personal del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni el de su hijo ni su domicilio, pero podrá contener otra información acerca de su hijo, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley. Usted tiene el derecho de controlar el uso de los datos personales de su hijo de acuerdo con la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de la información personal de su hijo. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio. El Hospital Infantil de México Federico Gómez, así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales.

Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al médico un resumen del expediente clínico de su hijo.

La información personal acerca de la salud de su hijo y del tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo



La participación de su hijo en este estudio puede ayudar a médicos e investigadores a comprender mejor los factores involucrados en el desarrollo de la Enfermedad de Injerto contra Hospedero y con ello buscar incrementar la posibilidad de éxito de un trasplante de células hematopoyéticas.

9.-¿QUÉ OTROS PROCEDIMIENTOS O TRATAMIENTOS PODRÍAN ESTAR DISPONIBLES PARA USTED?

Su hijo no tiene que participar en este estudio de investigación si no lo desea.

10.-¿SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO LE GENERARÁ ALGÚN COSTO?

No habrá costos para usted por la participación de su hijo en este estudio.

11.-¿SE LE PROPORCIONARÁ ALGUNA COMPENSACIÓN ECONÓMICA PARA GASTOS DE TRANSPORTACIÓN?

Ni a usted ni a su hijo se les proporcionará ninguna compensación económica.

12.-¿RECIBIRÁ ALGÚN PAGO POR SU PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO?

Usted no recibirá ningún pago por la participación de su hijo en este estudio

13.-¿SE ALMACENARÁN MUESTRAS DE SANGRE O TEJIDOS PARA FUTURAS INVESTIGACIONES?

No se almacenarán muestras de sangre o tejidos para futuras investigaciones.

14.-¿QUÉ DEBE HACER SI LE PASA ALGO COMO RESULTADO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO?

Si su hijo sufre una lesión o enfermedad durante su participación en el estudio, debe buscar tratamiento a través de su médico, de cabecera o centro de atención médica de elección y debe informárselo inmediatamente al médico del estudio.

Los gastos que genere dicha lesión o enfermedad sólo le serán pagados si el personal del estudio ha decidido que la lesión / enfermedad está directamente relacionada con los procedimientos del estudio, y no es el resultado de una condición pre-existente de la progresión normal de su enfermedad, o porque no se han seguido las indicaciones que se han recomendado.

15.-¿CUÁLES SON SUS DERECHOS COMO SUJETO DE INVESTIGACIÓN?

Si decide que su hijo participe en este estudio, usted y su hijo tienen derecho a ser tratados con respeto, incluyendo la decisión de continuar o no su participación en el estudio. Usted es libre de terminar la participación de su hijo en este estudio en cualquier momento.



RESUMEN CONSENTIMIENTO

PARA LLENAR POR EL SUJETO DE INVESTIGACIÓN

- La participación de mi hijo es completamente voluntaria.
- Confirmando que he leído y entendido este documento y la información proporcionada del estudio.
- Confirmando que se me ha explicado el estudio, que he tenido la oportunidad de hacer preguntas y que se me ha dado el tiempo suficiente para decidir sobre la participación de mi hijo en este estudio. Se con quién debo comunicarme si tengo más preguntas.
- Entiendo que las secciones de las anotaciones médicas de mi hijo serán revisadas cuando sea pertinente por el Comité de Ética en Investigación o cualquier otra autoridad reguladora para proteger la participación de mi hijo en el estudio.
- Acepto que los datos personales de hijo se archiven bajo códigos que permitan mi identificación.
- Acepto que el médico general de mi hijo sea informado de mi participación en este estudio.
- Confirmando que se me ha entregado una copia de este documento de consentimiento firmado.

Nombre del Padre del Sujeto de Investigación _____ Firma _____

Fecha _____

Nombre de la Madre del Sujeto de Investigación _____ Firma _____

Fecha _____



agencias reguladoras locales (Secretaría de Salud SSA a través de la COFEPRIS), así como al Comité de Ética en Investigación y al Comité de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución, podrán inspeccionar el expediente clínico de su hijo, incluso los datos que fueron recabados antes del inicio de su participación, los cuales pueden incluir nombre, domicilio u otra información personal de su hijo.

En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parte o de todo el expediente clínico de su hijo. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar los derechos de su hijo como sujeto en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted autoriza el uso y revelaciones de la información acerca del estado de salud y tratamiento de su hijo identificado en esta forma de consentimiento. Su hijo no perderá ninguno de sus derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de la información de su hijo, se le informará.

18.- SI TIENE PREGUNTAS O INQUIETUDES ACERCA DE ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN, ¿A QUIÉN PUEDE LLAMAR?

En caso de tener alguna pregunta relacionada a los derechos de su hijo como sujeto de investigación del Departamento de Laboratorio Clínico del Hospital Infantil de México Federico Gómez podrá contactar al M. en C. Israel Parra Ortega o a su equipo al número 55 5228 9817 Ext. 2280 en caso de tener dudas en relación a los derechos de su hijo como paciente.



PRIMER TESTIGO

Nombre del Primer Testigo _____ Firma _____

Dirección _____

Fecha _____ Relación con el Sujeto de Investigación _____

SEGUNDO TESTIGO

Nombre del Segundo Testigo _____ Firma _____

Dirección _____

Fecha _____ Relación con el Sujeto de Investigación _____

PERSONA QUE OBTIENE CONSENTIMIENTO

He discutido lo anterior y he aclarado las dudas. A mi más leal saber y entender, el sujeto está proporcionando su consentimiento tanto voluntariamente como de una manera informada, y él/ella posee el derecho legal y la capacidad mental suficiente para otorgar este consentimiento.

Nombre de la Persona que obtiene el Consentimiento _____ Firma _____

Fecha _____