



Inmunología

www.elsevier.es/inmunologia



Original / Comunicación breve

Patrones diferenciales de distribución de los alelos y genotipos HLA-DPA1* en asociación con leucemias linfoides agudas y leucemias mieloides crónicas en pacientes del estado Zulia, Venezuela

Miriam Echeverría^a, Sergio Rivera Pirela^{a,b,*}, Georgina Márquez^b,
Zuhey Carrillo^a, Yennis Parra^a y Carmen Cecilia Villalobos^c

^aUniversidad del Zulia (LUZ), Maracaibo, Zulia, Venezuela

^bBanco de Sangre del Estado Zulia, Maracaibo, Zulia, Venezuela

^cHospital de Especialidades Pediátricas, Maracaibo, Zulia, Venezuela

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 13 de julio de 2010

Aceptado el 25 de octubre de 2010

Palabras clave:

HLA-DPA1*

Leucemias

Asociación HLA-enfermedades

RESUMEN

Poco se sabe aún de la relevancia del polimorfismo y la función del HLA-DP. La leucemia linfocítica aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en niños y adolescentes en la población zuliana de Venezuela. La leucemia mieloide crónica (LMC) afecta igualmente a niños, jóvenes y adultos. Varios estudios epidemiológicos revelan la presencia de ciertos factores asociados con la susceptibilidad. El locus HLA-DPA1*, alelos HLA-DPA1*01, *02, *03 y *04, se estudiaron utilizando los estuches PCR Olerup SSPTM (Genovision), en una población de 48 pacientes con LLA, 48 con LMC y 48 controles sanos provenientes del Banco de Sangre del Estado Zulia, Venezuela, mestizos no relacionados. El análisis estadístico de las frecuencias se determinó por recuento directo; la comparación de las frecuencias alélicas se realizó con la prueba de χ^2 corregida por Yates y los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. Los riesgos relativos (RR) $> 2,5$ se consideraron asociaciones positivas y los < 1 , negativas. Se obtuvieron asociaciones positivas entre DPA1*01:05 (RR = 3,65; $p \leq 0,05$), DPA1*01:06 (RR = 13,88; $p \leq 0,05$) y DPA1*01:07 (RR = 10; $p \leq 0,05$) con la LLA. El DPA1*01:03:01-01:03:02 (RR = 0,46; $p \leq 0,05$) y DPA1*02:01:01-02:01:06 (RR = 0,29; $p \leq 0,05$) mostraron asociación negativa con la LLA. No se observaron asociaciones positivas entre el DPA1* y la LMC. DPA1*01:05 (RR = 0,08; $p \leq 0,05$), DPA1*01:08 (RR = 0,06; $p \leq 0,05$) y DPA1*01:09 (RR = 0,14; $p \leq 0,05$) mostraron asociaciones negativas con la LMC. Curiosamente, el genotipo DPA1*01:03:01-01:03:02/02:01:01-02:02:06 mostró una frecuencia del 40,4% en controles, el 8,5% en pacientes LLA y el 64,6% en pacientes con LMC, aparte de otras notables diferencias genotípicas. Las marcadas discrepancias en la distribución de las frecuencias de los alelos y genotipos DPA1* en pacientes con LLA y el escaso polimorfismo mostrado por la región DPA1* en pacientes LMC probablemente revelan diferencias notables en la patogenia de ambos tipos de leucemia.

© 2010 Publicado por Elsevier España, S. L. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sergio.rivera54@hotmail.es (S. Rivera Pirela).

Differential pattern of distribution of HLA-DPA1* alleles and genotypes in association with acute lymphoblastic leukemia and chronic myeloid leukemia patients from Zulia estate, Venezuela

A B S T R A C T

Keywords:

HLA-DPA1*

Leukemia

HLA-disease-association

Little is known about the relevance of the polymorphisms in the function of HLA-DP. Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most frequent cancer in children and adolescents in Zulia population. Chronic myeloid leukemia (CML) is similar in adolescents, young adults and mild adults. The epidemiologic studies suggest the presence of several factors related to the susceptibility. Forty-eight patients with ALL and 48 with CML, were compared with 48 controls from The Blood Bank of Zulia State, Venezuela, all of them unrelated racially mestizos. To evaluate the positive and negative associations between HLA allele and leukemias, the HLA-DPA1 locus and HLA-DPA1*01,*02,*03 and *04 alleles were studied using PCR Olerup SSPTM (Genovision). HLA-DPA1*01:05 (RR = 3.65; $P \leq .05$) and DPA1*01:06 (RR = 13.88; $P \leq .05$) alleles showed a positive association with ALL. Furthermore, HLA-DPA1*01:03:01-01:03:02 (RR = 0.46; $P \leq .05$), DPA1*01:07 (RR = 10; $P \leq .05$) and DPA1*02:01:01-02:01:06 (RR = 0.29; $P \leq .05$) were negatively associated with ALL. Moreover, HLA-DPA1*01:05 (RR = 0.08; $P \leq .05$), DPA1*01:08 (RR = 0.06; $P \leq .05$) and DPA1*01:09 (RR = 0.14; $P \leq .05$) showed a negative association with CML. Curiously, the genotype HLA-DPA1*01:03:01-01:03:02/02:01:01-02:02:06 showed a frequency of 40.4% in controls, 8.5% in ALL patients and 64.6% in CML patients. These marked differences in the frequency of distribution of HLA-DPA1* alleles and genotypes in CML and ALL patients, probably reveals a important pathogenic differences for the two types of leukemia.

©2010 Published by Elsevier España, S. L. All rights reserved.

Se conoce poco sobre la relevancia del polimorfismo en la función de la región HLA-DP, y su participación en la respuesta inmunitaria no ha sido elucidada. Se desconoce la participación de la molécula HLA-DP en la respuesta inmunitaria; sin embargo, se han descrito algunas asociaciones

con enfermedades y los alelos HLA-DP han sido señalados como posible blanco de células T aloespecíficas en el contexto de la enfermedad de injerto contra el huésped¹. Algunas enfermedades ya han sido asociadas a esta región del HLA de clase II. El genotipo DPA1*01-DPB1*02:02:02 fue el único

Tabla 1 - Frecuencias alélicas (FA) HLA-DPA1* en pacientes con leucemia linfóide aguda (LLA) y leucemia mieloide crónica (LMC)

Alelo DPA1*	Controles		Pacientes LLA		Pacientes LMC	
	n	FA	n	FA	n	FA
01:03:01-01:03:02	35	0,3724	20 *	0,2128	43	0,4479
1:03:03	1	0,0106	0	0	1	0,0104
1:04	2	0,0213	1	0,0106	1	0,0104
1:05	5	0,0532	16*	0,1702	0*	0
1:06	0	0	6*	0,0638	5*	0,0522
1:07	1	0,0106	9*	0,0957	0	0
1:08	7	0,0745	15	0,1596	0*	0
1:09	3	0,0319	2	0,0213	0*	0
02:01:01-02:01:06	27	0,2872	10*	0,1064	39	0,4063
02:01:01-02:01:03	2	0,0213	8	0,0851	2	0,0208
2:03	1	0,0106	1	0,0106	0	0
2:04	1	0,0106	2	0,0213	2	0,0208
3:01	3	0,0319	3	0,0319	2	0,0208
3:02	2	0,0213	0	0	0	0
4:01	4	0,0426	1	0,0106	1	0,0104
Total	94	1	94	1	96	1

*LLA: DPA1*01:03:01-01:03:02 (RR = 0,46; $p \leq 0,05$); DPA1*01:05 (RR = 3,65; $p \leq 0,05$); DPA1*01:06 (RR = 13,88; $p \leq 0,05$); DPA1*01:07 (RR = 10; $p \leq 0,05$); DPA1*02:01:01-02:01:06 (RR = 0,29; $p \leq 0,05$).

*LMC: DPA1*01:05 (RR = 0,08; $p \leq 0,05$); DPA1*01:06 (RR = 11,3; $p \leq 0,05$); DPA1*01:08 (RR = 0,06; $p \leq 0,05$); DPA1*01:09 (RR = 0,14; $p \leq 0,05$).

genotipo asociado significativamente con diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) en una población venezolana². En estudios familiares, el alelo DPB1*03:01 haplotipo DPA1*01:03-DPB1*03:01 se encontró asociado con susceptibilidad, mientras que el DPB1* haplotipo DPA1*01:03-DPB1*04:02 y el haplotipo DPA1*01:03-DPB1*01:01 resultaron de protección en la DMID³. Los genotipos DPA1*02:02-DPB1*05:01 y DPA1*02:02-DPB1*03:01, respectivamente, se asociaron fuertemente con el riesgo de infección persistente con el virus de la hepatitis B en asiáticos^{4,5}. El alelo DPA1*02:02:02 se asoció positivamente con hiperseropositividad de niveles de anticuerpo después de la vacunación antisarampionosa en niños escolares en Estados Unidos⁶. La leucemia linfóide aguda (LLA) es el cáncer más frecuente en niños y adolescentes en la población zuliana. La leucemia mieloide crónica (LMC) es similar en adolescentes, adultos jóvenes y adultos maduros. Los estudios epidemiológicos indican la presencia de varios factores relacionados a la susceptibilidad a sufrir ambos tipos de leucemia^{7,8}. Pawelec et al⁹, utilizando a 254 pacientes con diferentes tipos de leucemias, fueron de los primeros en señalar la influencia de la región DP en la susceptibilidad o resistencia a la LLA, mostrando una asociación positiva con el DPw2 y DPw5 y ninguna con la LMC. Previamente, en un grupo de 24 pacientes zulianos con LLA y LMC, el alelo DPA1*01:05 mostró una asociación positiva con la LLA, observándose los alelos DPA1*01:03:01-01:03:02 y HLA-DPA1*02:01:01-02:01:06 asociados negativamente¹⁰. Más recientemente, el gen HLA-DRB1*15 se ha señalado como factor de riesgo en niños con LLA¹¹. Se especula que la molécula HLA-DPB1*06:01 puede estar funcionalmente involucrada en leucemias infantiles¹. Ciertas hipótesis se han tejido en torno a la posibilidad de participación de estas moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad en la patogenia de las leucemias¹². Todos estos antecedentes apuntan a que la región DP, conformada por los alelos HLA-DPB1* y HLA-DPA1*, ambas cadenas con diferentes polimorfismos, aparecen involucradas en la patogenia de las leucemias. El estudio molecular detallado de ambos polimorfismos nos permitirá dilucidar el grado de asociación positiva o negativa de los alelos DP por separado y de los haplotipos al concluir la investigación. Por ahora, mostramos los resultados obtenidos con el estudio de la región HLA-DPA1*. Los alelos HLA-DPA1*01,*02,*03 y *04 se estudiaron usando PCR Olerup SSP™ (Genovision), según instrucciones del fabricante, en una población representativa de 48 pacientes con LLA, 48 con LMC y 48 controles del Banco de Sangre del Estado Zulia, Venezuela, todos mestizos racialmente no relacionados, con su debido consentimiento. El análisis estadístico de los alelos HLA-DPA1* se determinó por recuento directo. Las comparaciones de las frecuencias alélicas se realizaron usando la prueba de la χ^2 corregida por Yates. Los valores de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. La fuerza de asociación se expresó como riesgo relativo (RR) $> 2,5$ para una asociación positiva y < 1 para una asociación negativa. En los 48 pacientes con LLA evaluados se confirmaron las asociaciones positivas con el alelo DPA1*01:05 (RR = 3,65; $p \leq 0,05$) y negativa con el alelo DPA1*01:03:01-01:03:02 (RR = 0,46; $p \leq 0,05$) observadas en el estudio preliminar en grupos de 24 pacientes LLA y LMC (10). Además, resultaron asociados positivamente los alelos DPA1*01:06 (RR = 13,88; $p \leq 0,05$) y DPA1*01:07 (RR = 10;

$p \leq 0,05$) con la LLA. El alelo DPA1*02:01:01-02:01:06 (RR = 0,29; $p \leq 0,05$) se reveló asociado negativamente con la LLA. No hubo asociación positiva entre HLA-DPA1* y la LMC, dato que se obtuvo igualmente en el estudio preliminar¹⁰. Los alelos DPA1*01:05 (RR = 0,08; $p \leq 0,05$), DPA1*01:08 (RR = 0,06; $p \leq 0,05$) y DPA1*01:09 (RR = 0,14; $p \leq 0,05$) resultaron asociados negativamente con la LMC (tabla 1). Curiosamente, el genotipo HLA-DPA1*01:03:01-01:03:02/02:01:01-02:02:06 presentó frecuencias significativamente diferentes ($p < 0,05$) en el 40,4% de los controles, el 8,5% de los pacientes LLA y el 64,6% de los pacientes LMC, entre otras notables variaciones (tabla 2). Estos patrones disímiles de la distribución de las frecuencias de los alelos y genotipos HLA-DPA1* en pacientes LMC y LLA con respecto a los controles y el escaso polimorfismo

Tabla 2 - Distribución de genotipos HLA-DPA1*/100 pacientes con leucemia linfóide aguda (LLA) y leucemia mieloide crónica (LMC)

DPA1*genotipos	Controles (n = 48)	Pacientes LLA (n = 48)	Pacientes LMC (n = 48)
01:03:01-01:03:02/01:03:01-01:03:02	4,3	8,5	6,3
01:03:01-01:03:02/01:05	10,6	8,5	0*
01:03:01-01:03:02/01:06	0	0	6,3
01:03:01-01:03:02/02:01:01-02:02:06	40,4	8,5*	64,6
01:03:01-01:03:02/02:02:01-02:02:03	4,3	6,4	2,08
01:03:01-01:03:02/02:03	2,12	0	0
01:03:01-01:03:02/02:04	0	0	2,08
01:03:01-01:03:02/03:01	2,12	2,12	2,08
01:03:01-01:03:02/04:01	4,3	0	0
01:03:03/01:08	2,12	0	0
01:03:03-02:01:01-02:01:06	0	0	2,08
01:04/01:04	2,12	0	0
01:04/02:03	0	2,12	0
01:04/02:04	0	0	2,08
01:05/01:07	0	2,12	0
01:05/01:08	0	12,8*	0
01:05/02:02:01-02:02:03	0	2,12	0
01:06/01:05	0	8,5	0
01:06/01:06	0	0	2,08
01:07/01:08	2,12	8,5	0
01:07/02:01:01-02:02:03	0	6,4	0
01:07/04:01	0	2,12	0
01:08/01:06	0	4,3	0
01:08/03:01	0	2,12	0
01:08/03:02	4,3	0	0
01:08/04:01	4,2	0	0
01:09/01:03:01-01:03:02	2,12	0	0
01:09/01:08	0	4,3	0
01:09/01:09	2,12	0	0
02:01:01-02:01:06/02:01:01-02:01:06	6,4	4,3	6,2
02:01:01-02:01:06/02:02:01-02:02:03	0	0	2,08
02:02:01-02:02:06/03:01	2,12	0	0
02:04/02:01:01-02:01:06	2,12	4,2	0
03:01/01:08	2,12	0	0
03:01/02:02:01-02:02:03	0	2,12	0
03:01/04:01	0	0	2,08
Total	100	100	100

LLA: DPA1*01:05/01:08 (RR = 13,8; $p < 0,005$);
DPA1*01:03:01-01:03:02/02:01:01-02:01:06 (RR = 0,137; $p < 0,05$).
LMC: DPA1* 01:03:01-01:03:02/*01:05 (RR = 0,085; $p < 0,05$);
DPA1*01:03:01-01:03:02/*02:01:01-02:01:06 (RR = 2,692; $p < 0,05$).

de las moléculas DPA1* observado en los pacientes con LMC probablemente revelan patogenias contrarias para estos dos tipos diferentes de leucemia. Al completar el estudio del polimorfismo, la región HLA-DPB1* en estos pacientes, podremos establecer las posibles relaciones con esta importante región de clase II y compararlas con varios estudios previamente divulgados.

Conclusiones

Se establecieron asociaciones positivas y negativas entre los alelos y genotipos HLA-DPA1* con las LLA y LMC. No se detectaron asociaciones positivas entre alelos HLA-DPA1* y las LMC.

El polimorfismo de los alelos y genotipos HLA-DPA1* varía considerablemente comparando los controles y pacientes LLA con los pacientes LMC, en los que es bastante restringido.

Estas diferencias en los patrones de distribución del HLA-DPA1* en ambos tipos de leucemia indican, probablemente, que las patogenias de estas enfermedades son diferentes, y apunta en las LMC hacia deficiencias en la presentación antigénica.

Financiación

Estudio financiado por CONDES LUZ Proyecto No.CC-0776-07.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Taylor GM, Hussain A, Verhage V, Thompson PD, Fergusson WD, Watkins G, et al. Strong association of the HLA-DP6 supertype with childhood leukaemia is due to a single allele, DPB1*0601. *Leukemia*. 2009;23:863-9.
2. Diaz G, Amicosante M, Jaraquemada D, Butler RH, Guillen V, Sanchez M, et al. Functional analysis of HLA-DP polymorphism: a crucial role for DPB residues 9, 11, 35, 55, 56, 69 and 84 ± 87 in T cell allorecognition and peptide binding. *Int Immunol*. 2003; 15:565-76.
3. Varney MD, Valdes AM, Carlson JA, Noble J, Tait BD. HLA DPA1, DPB1 alleles and haplotypes contribute to the risk associates with type 1 diabetes: analysis of the Type 1 Diabetes Genetics Consortium Families. *Diabetes*. 2010;59:2055-62.
4. Balducci-Silanoa PL, Layrisse ZL. HLA-DP and susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus in an ethnically mixed population. Associations with other HLA-alleles. *J Autoimmunity*. 1995;8:425-37.
5. Kamatani Y, Wattanapokayakit S, Ochi H, Kawaguchi T, Takahashi A, Hosono N, et al. A genome-wide association study identifies variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians. *Nature Genet*. 2009;41:591-5.
6. Ovsyannikova I, Jacobson R, Vierkant R, Pankratz S, Jacobsen S, Poland G. Associations between human leukocyte antigen (HLA) alleles and very high levels of measles antibody following vaccination. *Vaccine*. 2004;22:1914-20.
7. Miller RW, Young JL, Novakovic B. Childhood Cancer. *Cancer*. 1995;75:395.
8. Dorak MT, Burnett AK. Major histocompatibility complex, T-complex, and leukemia. *Cancer Causes Control*. 1992;3: 273-82.
9. Pawelec G, Rehbein A, Schaudt K, Busch FW. Frequencies of HLA-DP alleles in the four major types of leukaemia. *Tissue antigens*. 1989;34:138-40.
10. Rivera PS, Echeverria M, Márquez G, Villalobos C, Pereira N, De Salvo L, et al. Asociación HLA-DR/DQ/DPA1 con leucemias linfoides agudas (LLA) y leucemias mieloides crónicas (LMC) en la población mestiza del estado Zulia, Venezuela (Estudio Preliminar). *Ciencia*. 2007;15:365-72.
11. Wang XJ, Ai XF, Sun HY, Wang F, Xu SC, Wang ZQ, et al. Relation of HLA-DRB1*15 with pathogenesis in 162 childhood cases of acute lymphoblastic leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2009;17:1507-10.
12. Taylor M, Hussain A, Urayama K, Chokkalingam A, Thompson P, Trachtenberg E, et al. The human major histocompatibility complex and childhood leukemia: an etiological hypothesis base don molecular mimicry. *Blood Cells Mol Dis*. 2009;42: 129-35.
1. Taylor GM, Hussain A, Verhage V, Thompson PD, Fergusson WD, Watkins G, et al. Strong association of the HLA-DP6 supertype