

Caracterización genotípica de receptores tipo KIR y su asociación con la supervivencia del injerto en pacientes con trasplante de células hematopoyéticas

Marlon Castrillón Álvarez
C.C. 1.128.442.347

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas con énfasis en Inmunología

Tutor:

Cristiam Mauricio Álvarez Botero.
Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICIG) - Universidad de Antioquia

Co-tutor:

Sonia Yamile Velásquez Giraldo
Translational Research in Anesthesiology and Critical Care (TRACC).
Facultad de Medicina Mannheim – Universidad de Heidelberg.

Comité tutorial:

Amado José Karduss Urueta
Instituto de Cancerología - Clínica las Américas.

Andrés Augusto Arias Sierra.
Grupo de Inmunodeficiencias Primarias (IDP) - Universidad de Antioquia.

Daniel Camilo Aguirre Acevedo
Instituto de Investigaciones Médicas- Universidad de Antioquia.

Universidad de Antioquia
Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas
Medellín, Colombia
2020

Tabla de contenido

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 4 |
| ABSTRACT | 6 |
| INTRODUCCIÓN | 7 |
| 1. Trasplante de progenitores hematopoyéticos | 7 |
| 2. Complicaciones TCMH | 9 |
| 3. Generalidades de las células NK | 13 |
| 4. Alorreactividad de las células NK en el TCMH | 17 |
| 5. Perspectivas para la selección parejas receptor-donante según compatibilidad receptores KIR | 21 |
| PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN | 24 |
| HIPÓTESIS | 24 |
| OBJETIVOS | 24 |
| 1. General | 24 |
| 2. Específicos | 24 |
| MATERIALES Y MÉTODOS | 25 |
| 1. Tipo de estudio y población de estudio | 25 |
| 2. Extracción de ADN mediante el método de “Salting Out” | 26 |
| 3. Verificación de la integridad y cuantificación del ADN | 27 |
| 4. Genotipificación HLA-C y KIR | 27 |
| 5. Construcción de haplotipos de receptores KIR y cálculo de frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas | 29 |
| 6. Determinación de la compatibilidad según los receptores tipo KIR basados en los modelos de alorreactividad de células NK | 31 |
| 7. Análisis estadísticos | 32 |
| RESULTADOS | 36 |
| 1. Características de los receptores de TCMH y sus donantes según variables demográficas, clínicas e inmunológicas. | 36 |
| 2. Frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas de receptores KIR. | 37 |
| 3. Compatibilidad según los receptores tipo KIR basados en los modelos de alorreactividad de células NK. | 39 |
| 4. Asociación entre la compatibilidad según los receptores tipo KIR y los diferentes desenlaces del TCMH. | 40 |
| DISCUSIÓN | 45 |
| 1. Caracterización genética de los receptores KIR | 45 |
| 2. Compatibilidad según los receptores KIR y su asociación con los desenlaces del TCMH | 50 |
| PERSPECTIVAS | 57 |
| FIGURAS, TABLAS Y LEYENDAS | 58 |
| Figura 1. Modelos de alorreactividad de células NK según los modelos de compatibilidad. | 58 |
| Figura 2. Ejemplo representativo de la verificación de la integridad y cuantificación del ADN | 60 |
| Figura 3. Supervivencia global de los receptores de TCMH con donante idéntico. | 61 |

| | |
|---|----|
| Figura 4. Supervivencia libre de enfermedad de los receptores de TCMH con donante idéntico. | 62 |
| Figura 5. Mortalidad no relacionada a recaída de los receptores de TCMH con donante idéntico. | 64 |
| Figura 6. Incidencia acumulada de EICH aguda en receptores de TCMH con donante idéntico. | 65 |
| Figura 7. Incidencia acumulada de EICH crónica en receptores de TCMH con donante idéntico. | 66 |
| Figura 8. Supervivencia global de los receptores de TCMH con donante haploideéntico. | 68 |
| Figura 9. Supervivencia libre de enfermedad de los receptores de TCMH con donante haploideéntico. | 70 |
| Figura 10. Mortalidad no relacionada a recaída de los receptores de TCMH con donante haploideéntico. | 71 |
| Figura 11. Incidencia acumulada de EICH aguda en receptores de TCMH con donante haploideéntico. | 72 |
| Figura 12. Incidencia acumulada de EICH crónica en receptores de TCMH con donante haploideéntico. | 73 |
| Figura 13. Incidencia acumulada de recaída en receptores de TCMH con donante idéntico. | 74 |
| Tabla 1. Resumen estudios sobre la relación entre modelos de compatibilidad de receptores KIR y desenlaces del TCMH. | 75 |
| Tabla 2. Características demográficas de los receptores y donantes. | 78 |
| Tabla 3. Características clínicas de los receptores. | 79 |
| Tabla 4. Características inmunológicas de los receptores y donantes. | 81 |
| Tabla 5. Frecuencias génicas y genotípicas de receptores KIR en receptores de TCMH. | 82 |
| Tabla 6. Frecuencias génicas y genotípicas de receptores KIR en donantes de TCMH. | 83 |
| Tabla 7. Haplotipos, frecuencias génicas y haplotípicas de receptores KIR en receptores | 84 |
| Tabla 8. Haplotipos, frecuencias génicas y haplotípicas de receptores KIR en donantes | 85 |
| Tabla 9. Compatibilidad según el modelo ligando – ligando de receptores KIR. | 86 |
| Tabla 10. Compatibilidad según el modelo ligando – receptor KIR. | 88 |
| Tabla 11. Compatibilidad según el modelo gen – gen de receptores KIR. | 90 |
| Tabla 12. Resumen compatibilidad según los receptores tipo KIR basados en los modelos de alorreactividad de células | 94 |
| Tabla 13. Resumen resultados del análisis bivariado – método de Kaplan Meier. | 95 |
| Tabla 14. Modelo de riesgos proporcionales de Cox de los eventos supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y mortalidad no relacionada de receptores de TCMH con donante idéntico | 96 |
| Tabla 15. Modelo de riesgos proporcionales de Cox de los eventos supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y mortalidad no relacionada de receptores de TCMH con donante haploideéntico | 97 |
| Tabla 16. Modelo de riesgos competitivos para los eventos EICH aguda, EICH crónica y recaída de receptores de TCMH con donante idéntico | 98 |
| Tabla 17. Modelo de riesgos competitivos para los eventos EICH aguda, EICH crónica y recaída de receptores de TCMH con donante haploideéntico | 99 |

RESUMEN

Antecedentes: El trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) es la alternativa terapéutica para pacientes con neoplasias hematológicas, inmunodeficiencias y tumores sólidos metastásicos. La selección de la pareja donante - receptor se basa en la compatibilidad del HLA. Sin embargo, existen otros factores inmunológicos relevantes dentro de la evolución del trasplante, como las respuestas de las células NK. Por esta razón, a nivel mundial se ha propuesto evaluar la compatibilidad en otros sistemas altamente polimórficos, como lo son los receptores tipo KIR de las células NK. Sin embargo, existen resultados contrastantes a nivel mundial sobre la asociación de la alorreactividad de las células NK y los diferentes desenlaces del TCMH según el modelo de alorreactividad evaluado. Además, en nuestro país no existen estudios que evalúen el efecto de la alorreactividad de las células NK en el desenlace del TCMH.

Metodología: Se estudiaron pacientes receptores de TCMH alogénico con donantes HLA idéntico (alelos HLA-A, -B, -C, -DR β , -DQ β) o haplo idénticos entre 2003-2018. Las muestras de DNA de receptores y sus respectivos donantes fueron extraídas mediante el método de Salting out a partir de sangre periférica. La tipificación de los receptores tipo KIR se llevó a cabo mediante el método de PCR-SSO usando el kit Gen-Probe Lifecodes KIR-SSO typing. A partir de esta tipificación se estimaron las frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas de los receptores KIR.

Los modelos de compatibilidad basados en los receptores KIR de las células NK fueron evaluados y se determinó su asociación con la supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad, mortalidad no relacionada a recaída, enfermedad injerto contra hospederio (EICH) aguda, EICH crónica y recaída mediante el método de Kaplan-Meier, empleando el logrank test. Además, se emplearon los modelos de riesgos proporcionales de Cox y el modelo de riesgos competitivos.

Resultados: De los modelos de compatibilidad evaluados, solo el modelo de compatibilidad gen –gen presentó una asociación con los diferentes desenlaces evaluados. Dentro de los receptores de TCMH con donante idéntico, los receptores trasplantados con un donante incompatible para los genes KIR tienen un 78% menos de riesgo de recaída (sHR 0,22 (IC95% 0,05 - 0,92), p=0,04). En el caso de los receptores de TCMH con donantes haplo idénticos, los receptores trasplantados con un donante incompatible para los genes KIR tienen un 77% menos de riesgo de mortalidad, y 77% menos de riesgo de mortalidad y recaída (HR 0,23 (IC 95% 0,06 - 0,82), p=0,024), además de un 73% menos de riesgo de EICH aguda (sHR 0,27 (IC95% 0,07 - 0,98), p=0,05).

Conclusión: Nuestros resultados demuestran por primera vez la asociación entre la alorreactividad de las células NK y los diferentes desenlaces del TCMH en población colombiana. Los resultados sugieren que el modelo de compatibilidad gen - gen de receptores KIR pueden ser una herramienta para predecir eventos de alorreactividad asociados con recaída en el caso del TCMH con donante idéntico, y eventos de alorreactividad asociados con supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y EICH aguda en el caso del TCMH con donante haploidéntico. A raíz de nuestros hallazgos resaltamos la importancia de la implementación de las pruebas de compatibilidad de receptores KIR dentro de los estudios inmunológicos pretrasplante el contexto del TCMH, para determinar la alorreactividad de las células NK con la finalidad de mejorar el desenlace del trasplante.

ABSTRACT

Background: Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a therapeutic option to patients affected by hematologic neoplasms, immunodeficiency disorders and metastatic solid tumors. The donor selection for HSCT is based on a number of criteria, with the most important being HLA-matching. Other histocompatibility-associated criteria, such as killer cell immunoglobulin like receptor (KIR) mismatch, have an impact on transplant outcome or transplant processes. For this reason, worldwide transplant centers have implemented KIR genotyping for donor selection. Nevertheless, there are not studies in our country that assess the effect of NK alloreactivity in HSCT outcomes.

Methods: We retrospectively evaluated a cohort of 161 donors – recipient pairs with HSCT at a single center between 2004 and 2008. The patients were transplanted with HLA-matched donors (HLA-A, -B, -C, -DR β , -DQ β) or haploidentical donors. KIR typing was performed by PCR-SSO. Gene frequencies were estimated from carrier frequencies. Genotype frequencies were determined with direct count according to the presence or absence of KIR genes. Haplotype diversity and frequencies were inferred with HAPLO-IHP software.

Additionally, we evaluated three models of KIR compatibility to analyze NK alloreactivity and the association between these models and overall survival, free-disease survival, non-related mortality, graft versus host disease (GvHD, acute and chronic) and relapse. Survival analysis was carried out by Kaplan Meier method using the log rank test. Moreover, we employed Cox Regression Method and competing risk analysis.

Results: The KIR gene-gene model was associated with different outcomes in HSCT. In patients with HLA-matched donors, the recipients transplanted with KIR gene-gene mismatched donors had 78% less risk of relapse (sHR 0,22 (IC95% 0,05 - 0,92), $p=0,04$). In patients with haploidentical donors, the recipients transplanted with KIR gene-gene mismatched donors had 77% less risk of mortality and relapse (HR 0,23 (IC 95% 0,06 - 0,82), $p=0,024$), also, these patients had 73% less risk of acute GvHD (sHR 0,27 (IC95% 0,07 - 0,98), $p=0,05$).

Conclusion: The KIR gene-gene model predicts donor NK cells alloreactivity based on KIR genotype mismatch between recipients and donors. This model was associated with HSCT outcomes such as overall survival, free-disease survival, acute GvHD, and relapse. KIR genotyping could be a crucial donor selection criterion to choose the best donor.

INTRODUCCIÓN

1. Trasplante de progenitores hematopoyéticos

El trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) es el tratamiento de elección para pacientes con neoplasias hematológicas, entre ellas la leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide/linfoide crónica (LMC/LLC), mieloma múltiple (MM), síndromes mielodisplásicos y desordenes mieloproliferativos (SM/DM), así como para anemia aplásica (AA), hemoglobinopatías (HB) y algunos trastornos de inmunodeficiencia, desordenes degenerativos y tumores sólidos metastásicos (1). Este tipo de trasplante posibilita el restablecimiento de todas las líneas celulares linfoides, mieloides y eritroides y por consiguiente la restauración de las funciones de la médula ósea luego de los diferentes regímenes condicionantes, entre ellas la generación de un nuevo sistema inmune (2,3).

En la práctica clínica, el receptor antes de ser trasplantado es tratado con un régimen condicionante (quimioterapia, irradiación y/o inmunoterapia) con dos finalidades; en primer lugar, destruir las células tumorales en los pacientes con neoplasias y en segundo lugar alcanzar la inmunosupresión adecuada para permitir la aceptación de las células madre hematopoyéticas (CMHs) del donante. Estos regímenes condicionantes pueden ser mieloablativos, de intensidad reducida o no mieloablativos. En los regímenes mieloablativos se produce una marcada citopenia y mieloablación, la cual es irreversible a menos que se realice el TCMH. Los regímenes de intensidad reducida y no mieloablativos han sido diseñados para reducir la toxicidad relacionada al tratamiento de los regímenes mieloablativos, por lo que en la actualidad son los más utilizados (4).

Las CMHs pueden ser derivadas de un aspirado de médula ósea, de sangre periférica (luego de un tratamiento con factores estimulantes de colonia que movilizan las CMHs desde la médula ósea) o de sangre de cordón umbilical, y pueden ser obtenidas ya sea del mismo paciente (TCMH autólogo) o de un donante relacionado o no relacionado (TCMH alogénico) (3). Las principales diferencias entre estas fuentes radican en la cantidad de CMHs obtenidas, y la cantidad y funciones de otras células sanguíneas que componen los productos obtenidos e infundidos, los cuales pueden influir en los desenlaces inmunológicos del trasplante (4).

El TCMH autólogo es comúnmente usado como terapia en pacientes con malignidades sensibles a quimioterapia o radioterapia en una manera dependiente de dosis. Estos pacientes reciben un régimen cito-reductivo intensivo designado para

eliminar todas las células tumorales; sin embargo, estos regímenes pueden alterar las funciones hematopoyéticas en los pacientes, por lo que la infusión de CMHs (colectadas previamente del mismo paciente) es necesaria para rescatar los efectos mieloablativos del tratamiento (4).

Por otra parte, el TCMH alogénico en adición a la reconstitución de la función de la medula ósea, también tiene beneficios inmunoterapéuticos por parte de las células T y las células NK (del inglés *Natural Killer*) infundidas con las CMHs. Sin embargo, de existir incompatibilidades entre receptores y donantes estas pueden desencadenar complicaciones como enfermedad injerto contra hospedero (EICH), rechazo y riesgo de falla del injerto o aumento de la mortalidad (5,6). Por esta razón, en el TCMH alogénico la selección del donante se basa principalmente en la compatibilidad del antígeno leucocitario humano (HLA; del inglés *Human Leukocyte Antigen*), lo cual reduce la severidad de las respuestas alogénicas.

Según la compatibilidad del HLA, el TCMH alogénico puede ser con donante HLA-idéntico relacionado, con donante no relacionado con compatibilidad completa (“full match”), o con donante HLA - haploidéntico. El trasplante con donante idéntico relacionado ofrece mejores posibilidades de aceptación y minimiza el riesgo de EICH. Aun así, en los trasplantes con donantes HLA-idénticos o no relacionados con compatibilidad completa es necesario el uso de tratamientos profilácticos para la EICH por posibles incompatibilidades entre antígenos menores de histocompatibilidad (mHAgs) (7).

Por muchos años el TCMH alogénico se basó en la obtención de CMHs a partir de donantes idénticos, pero se ha estimado que solo el 30% de los pacientes podría llegar a ser trasplantado con un familiar HLA-idéntico, y en menos del 60% de los pacientes restantes se encuentran donantes no relacionados con compatibilidad completa, por lo que otras alternativas como el TCMH alogénico con donante haploidéntico han ganado relevancia y el número de pacientes recibiendo infusiones de CMHs en este contexto ha venido en aumento (8). Sin embargo, este tipo de trasplante requiere de ciertas consideraciones especiales, como lo es la remoción de las células T del injerto, para evitar la instauración de EICH severa. Esta remoción puede ser realizada mediante eliminación directa de células T o selección positiva de células CD34+. Igualmente, estas células T pueden ser eliminadas luego del trasplante con los tratamientos inmunosupresores (4). En la actualidad, la remoción de las células T no es necesaria y en su lugar se han establecido diferentes tratamientos profilácticos para evitar la instauración de la EICH.

A pesar de los algoritmos actuales de selección de donantes basados en la

compatibilidad de HLA, aún se observan algunas limitaciones relacionadas con la aparición de múltiples infecciones a raíz de la inmunosupresión y la mieloablación, la pérdida del injerto o recaída ante la enfermedad original, además de la alta incidencia de EICH (9).

2. Complicaciones TCMH

2.1 Enfermedad injerto contra hospedero (EICH)

La EICH es la principal complicación del TCMH alogénico. Esta enfermedad es un desorden inmunológico donde células T del donante atacan tejidos del hospedero que son reconocidos como extraños. A pesar del desarrollo de nuevas estrategias en el TCMH, como las mejoras en las infusiones de células del donante, regímenes condicionantes no mieloablativos, medicamentos inmunosupresores y tratamientos profilácticos para EICH, esta enfermedad continúa siendo letal y limita el uso del TCMH (10).

La EICH es dividida en EICH aguda y crónica, las cuales se caracterizan por ser desórdenes multisistémicos, y son clasificadas de acuerdo a los hallazgos clínicos y a su vez subclasificadas según el tiempo de presentación en: EICH aguda clásica (entre los primeros 100 días luego de la infusión de las CMH); EICH aguda persistente, recurrente o latente (luego de 100 días postrasplante); EICH crónica clásica (en cualquier tiempo, sin características de EICH aguda) y síndrome de solapamiento (en cualquier tiempo, con manifestaciones clínicas de EICH aguda y crónica) (9). La EICH aguda puede ocurrir hasta en el 50% de los pacientes con TCMH alogénico, y estos porcentajes son mayores en el caso de trasplantes con donantes idénticos no relacionados o trasplantes con donantes haploidénticos. Por su parte, la incidencia de EICH crónica varía entre el 6 y 80% de los TCMH. Estas variaciones en las diferentes cohortes de pacientes evaluados pueden ser por la variabilidad en la identificación, criterios de diagnóstico y documentación de los casos de EICH (11).

En el TCMH alogénico las células T y las células NK infundidas con las CMHs pueden desempeñar un papel esencial en dos desenlaces contradictorios; por un lado, estas células pueden reconocer tejidos sanos como piel, intestino e hígado, y células presentadoras de antígeno (APC) del receptor, lo que puede conducir al desarrollo de EICH (12). Por otro lado, las células T y las células NK pueden atacar células tumorales residuales que persisten luego de los regímenes condicionantes, lo cual reduce el riesgo de recaída de la enfermedad (4), proceso inmunológico conocido como efecto injerto contra tumor (ICT).

Las respuestas inmunológicas de la EICH aguda pueden iniciar con los daños tisulares debidos al régimen condicionante, el cual conduce a la secreción de citocinas proinflamatorias por las células del receptor, como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) e IL-1. Estas citocinas crean un microambiente inflamatorio que incrementa la expresión de moléculas de adhesión, moléculas coestimuladoras, antígenos del HLA, y gradientes de quimiocinas, que en conjunción con las respuestas de estrés y liberación de DAMPs llevan a la activación de APCs (principalmente del donante, las cuales pueden estar presentes en las infusiones de células trasplantadas o derivarse a partir de las células hematopoyéticas del donante) y componentes del sistema inmune innato que participan en un daño directo de los tejidos (4). El condicionamiento mieloablativo también genera efectos indirectos que llevan a la instauración de esta respuesta inmune, como lo es el impacto sobre la microbiota intestinal, de la cual pueden liberarse moléculas como LPS cuando hay daño, y estas moléculas pueden a su vez activar receptores tipo Toll (TLRs) y NOD (NLRs) y causar la liberación de citocinas proinflamatorias (13).

Una vez activadas las APCs, estas inician un proceso de presentación antigénica y de reclutamiento de células T. Las células T CD4+ alorreactivas vírgenes del donante responden a las moléculas alogénicas del HLA clase II del receptor presentes en los tejidos y maduran para convertirse en células efectoras con un perfil de expresión de citoquinas Th1. Estas células T CD4+ efectoras en combinación con las células APCs, activan células T CD8+ para convertirse en células CD8+ citotóxicas (CTLs) las cuales pueden acceder a los tejidos afectados y junto con células del sistema inmune innato (por ejemplo, macrófagos y células NK) exacerbaban el daño tisular (14). La alteración del tracto gastrointestinal lleva a la aparición de síntomas como náuseas, vómito, obstrucción intestinal y diarrea; el daño en tejidos cutáneos se manifiesta por la aparición de erupciones maculopapulares, eritrodermia y ampollas; mientras que el daño hepático conlleva a ictericia, hiperbilirrubinemia y aumento de las transaminasas (10). Si la EICH aguda no es tratada, la enfermedad prosigue a estadios más severos, conduciendo a un daño sistémico que es más difícil de controlar.

Como se mencionó anteriormente, la EICH crónica puede manifestarse simultáneamente con la EICH aguda, desarrollarse luego de la EICH aguda o puede ocurrir *de novo*. En la EICH crónica se puede observar afectación de cualquier órgano del cuerpo con manifestaciones clínicas principalmente en zonas mucocutáneas, miofasciales y pulmonares. Estas se caracterizan por cambios inflamatorios crónicos con progresión a fibrosis de múltiples órganos de los sistemas integumentario,

músculo – esquelético, digestivo, gastrointestinal, cardio-respiratorio, reproductivo, y nervioso periférico (10).

Los eventos que desencadenan la EICH crónica son similares a los descritos anteriormente para la EICH aguda. Sin embargo, la EICH crónica se caracteriza por un daño tímico causado tanto por los regímenes condicionantes como por las células T alorreactivas, lo que conduce a la pérdida de células epiteliales tímicas (requeridas para la generación de células T reguladoras y la eliminación de células T autorreactivas) y por lo tanto a defectos en la selección positiva y negativa de células T generadas a partir de precursores hematopoyéticos después del TCMH. El resultado entonces es la pérdida de células reguladoras, incluyendo células T reguladoras, células B reguladoras, células NKT invariantes y células T reguladoras tipo I (Tr1). Igualmente, en la EICH crónica hay una producción de citocinas fibrogénicas como IL-2, IL-10, TGF- β y PDGF- α por parte de los macrófagos activados, lo que conduce a la proliferación y activación de fibroblastos del tejido comprometido (fenotipo esclerótico). Adicionalmente, existe una desregulación de células B, con un aumento en la hipermutación somática y la recombinación del cambio de clase de inmunoglobulinas (estimulados por BAFF), lo que resulta en una deposición patogénica de inmunoglobulinas en varios órganos, lo que contribuye a su daño. Estos cambios denotan un síndrome sistémico autoinmune asociado a cambios fibroproliferativos (9).

Con respecto al TCMH alogénico se ha observado que en los trasplantes de CMHs donde se han eliminado los linfocitos T, se reduce la aparición de EICH aguda. Aunque hay una reducción de EICH, la incidencia de rechazo y recaída a enfermedad original también se ve aumentada (15). En conjunto, estas observaciones demuestran que las respuestas de EICH mediadas por células T facilitan el proceso de aceptación y la erradicación de las células tumorales. Esta acomodación se ve facilitada porque las células T alorreactivas del donante median la eliminación de las células de la médula ósea del receptor y la eliminación de células del receptor que pueden iniciar una respuesta contra las células hematopoyéticas del donante. Similarmente, la eliminación de las células residuales del tumor es atribuida a estas células T en las respuestas ICT (16).

2.2 Rechazo del injerto

Dentro de las complicaciones inmunológicas del TCMH, el rechazo del injerto y la falla del mismo ocurren con menor frecuencia que la EICH. El rechazo es un reflejo de la presencia de células inmunocompetentes en el receptor que sobreviven luego de los regímenes condicionantes; las cuales reconocen y reaccionan contra células del donante. Las células que median el rechazo del injerto pueden ser las células NK, células NKT, células T $\gamma\delta$ y células T CD4+ y CD8+ del receptor que reconocen

aloantígenos del HLA clase I y clase II y mHAGs discordantes en las células del donante (17).

Varios factores influyen la probabilidad de rechazo del injerto, en particular el grado de inmunocompetencia del receptor, el grado de disparidad entre las moléculas del HLA del receptor y el donante, el número y fuente de las CMHs transfundidas, el tipo de régimen condicionante utilizado, y la posible sensibilización previa del receptor hacia antígenos de histocompatibilidad del donante (7).

2.3 Infecciones

Las infecciones representan una de las mayores complicaciones luego del TCMH. Una variedad de eventos puede comprometer el éxito del TCMH, entre los que se encuentran la toxicidad de múltiples órganos causada por los regímenes condicionantes; la anemia, trombocitopenia y leucopenia causadas por los regímenes mieloablativos; y la destrucción de los órganos linfoides e hipoplasia causados por la EICH. Todos estos eventos sumados a una reconstitución tardía del sistema inmune (principalmente de las células T) conducen a la inmunosupresión del receptor y la subsecuente susceptibilidad hacia infecciones oportunistas, como infecciones virales por Citomegalovirus (CMV), virus del Epstein Barr e infecciones fúngicas por especies de *Candida* y *Aspergillus fumigatus* (18). Estas infecciones a su vez pueden llevar a la disminución de las funciones hematopoyéticas por efectos directos o indirectos (17).

2.4 Rol de las células NK en las diferentes complicaciones del TCMH

Si bien se ha establecido un papel central de las células T en las respuestas que median tanto los efectos benéficos como perjudiciales del TCMH, el rol de otras células ha sido estudiado. Estudios sobre las células NK en el TCMH han demostrado que las células NK del receptor que sobreviven a los regímenes condicionantes pueden contribuir al rechazo del injerto, mientras que las células NK del donante pueden promover la aceptación de las células hematopoyéticas. De igual manera, múltiples estudios preclínicos y clínicos han identificado las células NK del donante como actores principales en las respuestas ICT y por ende en la reducción de los índices de recaídas. Sin embargo, el rol de las células NK en la EICH se encuentra menos establecido, ya que si bien en el modelo clásico de la patogénesis de la EICH, las células NK del donante, junto con las células T juegan un papel en la activación inmune patológica que conduce a este desenlace, existen evidencias en modelos preclínicos y estudios en receptores de TCMH donde las células NK pueden prevenir la EICH (19).

Se ha encontrado que la alorreactividad de las células NK es fundamental para la protección contra la EICH mediante sus funciones citotóxicas ya sea de manera directa, a través de la eliminación de células T alorreactivas activadas; o indirecta, por la eliminación de APCs, lo que previene la estimulación de las células T (19,20). En modelos murinos se ha demostrado que luego del TCMH, el tráfico de las células NK hacia órganos donde se desarrolla la EICH sigue una distribución espacial y temporal similar a las células T, favoreciendo la eliminación estas células en estos sitios a través de la producción de perforinas y la inducción de apoptosis mediada por Fas. Sin embargo, se ha demostrado que las células NK pueden modular las respuestas inmunes a través de la producción de citocinas. En modelos murinos y humanos se ha demostrado que si las subpoblaciones de células NK que llegan a los diferentes tejidos son secretoras de citocinas proinflamatorias (TNF- α e IFN- γ), se puede anular la actividad citotóxica protectora y promover el desarrollo de EICH (19).

Adicionalmente, las células NK pueden tener un rol protector contra muchas infecciones virales y algunas infecciones bacterianas debido a su rápida reconstitución durante las primeras semanas luego del trasplante, a diferencia de la reconstitución tardía del sistema inmune adaptativo.

Por esta razón las células NK han ganado un papel preponderante en el TCMH, ya que estas pueden estar implicadas en diferentes procesos inmunológicos y tener un gran impacto en el desenlace del trasplante.

3. Generalidades de las células NK

Las células NK son un componente importante del sistema inmune innato y sus funciones efectoras dependen de la integración de señales derivadas de diferentes receptores activadores e inhibidores. Dentro de sus funciones efectoras se destaca su actividad citotóxica, la cual puede ser directa o mediada por anticuerpos, y su producción de citocinas que desempeñan un papel inflamatorio y regulador de las respuestas innatas y adaptativas (21).

En circulación, las células NK pueden ser divididas en dos grupos funcionales basados en la expresión de CD56: células NK CD56^{bright} y células NK CD56^{dim}. Las células NK CD56^{bright} representan el 10% de las células NK en circulación y son más proliferativas, tienen mayor capacidad para producir y secretar citocinas luego de la estimulación con IL-12 e IL-18 y tienen baja actividad citotóxica. Por el contrario, las células NK CD56^{dim} representan el 90% y son más citotóxicas y median los procesos de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA) a través de los

receptores CD16 (FCγRIII). Una tercera subpoblación ha sido descrita en los últimos años y ha sido llamada células NK “adaptativas” (por sus propiedades similares a las células de memoria), las cuales tienen una alta capacidad citotóxica y presentan modificaciones epigenéticas en los genes de IFN- γ , TNF- α e IL-10, lo que les permite producir altas concentraciones de estas citocinas frente a una re-exposición patogénica (22).

3.1 Receptores de las células NK

Los principales receptores de las células NK tienen dos estrategias de reconocimiento de las moléculas de HLA clase I. Por un lado, un grupo de receptores reconocen moléculas no polimórficas (como el HLA-E) o regiones conservadas del HLA que presentan pocos polimorfismos; mientras que otro grupo de receptores reconocen moléculas altamente polimórficas del HLA. Estas moléculas altamente polimórficas (como el HLA-A, -B y -C) individualizan y diversifican las respuestas de las células NK a través de los receptores KIR. En consecuencia, estos receptores se caracterizan por su gran diversidad entre individuos, ya sea por las diferencias en los contenidos génicos, en el número de copias génicas o por polimorfismos.

Dentro de los receptores de las células NK destacados por regular sus funciones efectoras se incluyen los receptores de lectinas tipo C (CD94:NKG2) localizados en el cromosoma 12q1.3-13.4, y la superfamilia de receptores tipo inmunoglobulina que incluye a los receptores tipo KIR localizados en el cromosoma 19q13.4, los receptores citotóxicos naturales (NCRs) (críticos para el control de infecciones virales y tumores), y los receptores del leucocito tipo inmunoglobulina LIR-1 (ILT-2).

Los receptores tipo lectina son heterodímeros compuestos por una subunidad invariante (CD94) unida a una glicoproteína de la familia de los genes NKG2 (NKG2A/B, NKG2C/D, NKG2E Y NKG2F). CD94/NKG2A es un receptor inhibidor que se une a las moléculas del HLA-E, cuya expresión es promovida por la unión de péptidos de las secuencias líder de las moléculas HLA clase I, por lo que se piensa que las moléculas CD94/NKG2A monitorean la expresión de las moléculas clase I de una manera cuantitativa (mientras que los receptores KIR realizan un monitoreo de alelos individuales, como se describirá más adelante). Por su parte, CD94/NKG2C y NKG2D son receptores activadores, donde el primero de ellos reconoce también moléculas del HLA-E (con una menor afinidad), y el segundo reconoce moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad no clásicas, como MICA y MICB y otras moléculas como ULBP1, ULBP2 y ULBP3, las cuales son reguladas positivamente en células bajo estrés (en respuesta a infecciones virales y transformación tumorigénica) (23).

Los receptores citotóxicos naturales son una familia de receptores activadores tipo inmunoglobulina, e incluyen los receptores NKp30, NKp44 y NKp46, los cuales median la actividad citotóxica de las células NK frente a células tumorales. NKp30 reconoce ligandos tumorales como B7-H6, BAT3 y la proteína pp65 de CMV. Por su parte, NKp46 se une a las hemagglutininas (HA) del virus de la influenza (23). Por otro lado, los receptores LIR son inhibidores y reconocen moléculas clásicas y no clásicas del HLA clase I, incluyendo HLA-F y HLA.G.

3.2 Receptores tipo KIR y educación de las células NK

En el caso particular de los receptores KIR, estos reconocen moléculas de HLA clase I de las otras células, principalmente moléculas HLA-C, las cuales son clasificadas según los epítomos C1 y C2, que varían en el residuo en la posición 80 (C1: Asn80 y C2: Lys80). De igual manera estos receptores pueden reconocer el epítomo Bw4 en las moléculas HLA-B y algunas moléculas del HLA-A. La interacción de las moléculas de HLA clase I con receptores KIR inhibidores de las células NK previene su activación y por ende la destrucción de las células autólogas. La ausencia en el reconocimiento de las moléculas de HLA clase I (como resultado de una regulación negativa de su expresión causada por infecciones virales, daño o transformación tumoral) conduce a una activación de las células NK y destrucción de la célula carente de expresión de la molécula HLA clase I, fenómeno conocido como “missing self” o pérdida de reconocimiento de lo propio, que contribuye a la reactividad de las células NK (20).

Existen varias teorías para explicar el proceso por el cual una célula NK es educada y regulada para que reconozca solo las moléculas HLA clase I propias. Mediante el proceso de educación, las células NK son entrenadas en la médula ósea para que reconozcan aquellas células que pierden la expresión de moléculas HLA clase I. Para entender la educación de las células NK se han planteado diferentes modelos. En el modelo de “licensing” las células NK en desarrollo interactúan con moléculas HLA clase I de las células estromales y células hematopoyéticas a través de sus receptores inhibitorios, y el número de interacciones determina la capacidad de respuesta (a mayor número de receptores inhibitorios específicos mayor capacidad de respuesta) (24). Bajo este modelo, las células que no reconozcan sus propias moléculas de HLA clase I son programadas para tener una baja reactividad. En el proceso de educación de la célula NK se propone que la interacción inicial de un receptor KIR con su ligando influencia la expresión de otros KIR específicos para el mismo ligando HLA y las variaciones en el número de copias de genes KIR influencia la frecuencia de células NK educadas circulantes de un individuo (25).

El segundo modelo es conocido como “disarmed” y es análogo a un proceso de anergia inducida por activación. Los receptores tipo KIR inhibitorios contienen

motivos de inhibición en inmunorreceptores basados en tirosina (ITIM) en su cola citoplasmática y estos motivos pueden reclutar proteínas tirosina fosfatasas con dominio SH2 (SHP1) y fosfatasa del inositol con dominio SH2 (SHIP), las cuales inhiben las señales de los receptores tipo KIR activadores. Una falla de los receptores inhibitorios, ya sea por una disminución en su expresión, por su inhabilidad de interactuar con HLA clase I o en su señalización, resulta en células NK en periferia carentes de respuesta, ya que estas células no son eliminadas en timo (26). Sin embargo, se ha demostrado que estas células en sangre periférica pueden someterse a un proceso de “re-educación” que explicaría el hecho de que en periferia estas células NK pueden responder en condiciones inflamatorias, frente a infecciones y frente a procesos tumorales (27).

Por otro lado, durante el proceso de maduración de las células NK los receptores KIR activadores también cumplen un rol dentro de la educación de estas células, ya que estos receptores pueden recibir señales y activar sus motivos de activación de inmunorreceptores basados en tirosina (ITAM), los cuales se asocian con la proteína adaptadora DAP 12 y se da el reclutamiento de SYK y ZAP70 que median la activación de la célula NK. Si esto sucede en el timo, mediante un proceso análogo a la selección negativa de timocitos, las células NK cuyos receptores activadores reconocen los respectivos ligandos (células con infección viral o células bajo estrés) se convierten en células anérgicas y puede dar lugar a una eliminación parcial del repertorio de células NK (28).

3.3 Organización Genética de los Receptores KIR

Las células NK individualmente muestran una expresión variable y estocástica de receptores inhibidores y activadores, lo que indicaría que las células NK tienen diferente sensibilidad a ser inhibidas dependiendo de la expresión de sus receptores y de las moléculas HLA clase I co-heredadas. Los KIR se segregan independientemente de los genes HLA y están localizados en una de las regiones más variables del genoma humano en términos de contenido génico y polimorfismos de secuencia, lo cual contribuye a la generación de un repertorio de células NK con alta variabilidad en la expresión de receptores KIR de superficie (29). Actualmente se han descrito 15 genes y dos pseudogenes en la región del complejo de receptores leucocitarios (KIR2DL1, KIR2DL2/L3, KIR2DL4, KIR2DL5A, KIR2DL5B, KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1/S1, KIR3DL2, KIR3DL3 y los pseudogenes KIR2DP1 y KIR3DP1); los cuales pueden tener varios polimorfismos aumentando la variabilidad de estos genes. Los genes de los receptores tipo KIR han sido agrupados en dos haplotipos llamados A y B (AA y B/x) los cuales varían en frecuencia entre diferentes grupos étnicos (30).

El haplotipo A contiene principalmente KIR inhibidores y un KIR activador y está compuesto por 7 genes y 2 pseudogenes, algunos de los cuales también están presentes en el haplotipo B (conocidos como “framework genes”): KIR3DL3, KIR3DP1, KIR2DL4, KIR3DL2. En adición a estos genes KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1 y KIR2DS4 completan el haplotipo A. KIR2DS4 puede tener una variante que no es funcional (una mutación que genera una deleción en el gen, KIR2DS2del) por lo que el haplotipo A puede llegar a carecer completamente de un receptor tipo KIR activador. La variabilidad en el haplotipo A se da principalmente por polimorfismos, especialmente en el gen KIR3DL1 (31). Todas las otras posibles combinaciones de los genes KIR son reunidas en el haplotipo B, el cual contiene principalmente KIR activadores (KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS5 y KIR3DS1) y puede incorporar genes KIR inhibidores ausentes en el haplotipo A. El haplotipo B presenta una mayor variabilidad relacionada con el contenido de genes y a partir de análisis de segregación en familias, las técnicas de genotipificación de KIR han logrado identificar más de 40 haplotipos en el grupo B (32).

Cada haplotipo tiene una región que exhibe una elevada tasa de recombinación asimétrica relativa, el cual divide el haplotipo en una región centromérica (Cen) y otra región telomérica (Tel). En total han sido descritos cuatro motivos de genes centroméricos y dos motivos teloméricos. Por lo tanto, los haplotipos son el resultado de combinaciones entre estas regiones centroméricas y teloméricas. En el caso particular del haplotipo A, está conformado por una región Cen A y una región Tel A, y por convención todas las otras posibles combinaciones, incluyendo combinaciones entre regiones Cen A y Tel B o Cen B y Tel A hacen parte del haplotipo B (31). Como se puede observar los análisis de herencia y estructura genómica de los genes KIR es complejo dado que se segregan en haplotipos, y que estos tienen tasas elevadas de recombinación y que al mismo tiempo los genes presentan polimorfismos que se asocian con la especificidad, frecuencia y densidad de expresión. Esto se traduce en una baja probabilidad de que dos individuos no genéticamente relacionados seleccionados al azar, tengan el mismo genotipo de receptores KIR.

4. Alorreactividad de las células NK en el trasplante de células hematopoyéticas.

4.1 Reconstitución de las células NK luego del TCMH

Dentro de la evolución del TCMH, en el periodo inmediatamente posterior se da lugar a la reconstitución de las células del sistema inmune, incluyendo neutrófilos, células NK, células T y células B (33). Se ha visto que el proceso de reconstitución temprana de las subpoblaciones celulares es un proceso crítico en el desenlace del TCMH, demostrando que la supervivencia y la disminución de la mortalidad relacionada al

trasplante mejoran en aquellos pacientes con una alta tasa de reconstitución de linfocitos luego del TCMH (34).

La reconstitución del sistema inmune innato ocurre rápidamente entre los 20 y 30 días luego del trasplante, mientras que la reconstitución del sistema inmune adaptativo es más lenta y requiere de periodos entre uno y dos años. En el caso particular de las células NK, estos son los primeros linfocitos en reconstituirse entre dos y tres semanas luego de los regímenes condicionantes, inicialmente como células inmaduras con expresión alterada de los receptores KIR y una reducida capacidad funcional en comparación con las células NK maduras (35), pero posteriormente recuperan sus funciones y alcanzan valores absolutos equiparables a individuos sanos luego de la cuarta semana postrasplante (36). Por el contrario, las células B alcanzan niveles normales en el tercer mes, aunque el número absoluto puede tardar en normalizarse entre 6 y 12 meses. Sin embargo, la mayoría de estas células se caracterizan por su inmadurez funcional, siendo principalmente células vírgenes y transicionales. En el caso de las células T, estas tienen un proceso de reconstitución de dos fases; una independiente del timo, donde las células T infundidas junto con las CMHs se expanden en periferia con un repertorio limitado de receptores de células T (TCRs). La segunda fase de reconstitución es dependiente de timo, y se caracteriza por ser extremadamente lenta, tardando varios años para el restablecimiento de un repertorio diverso de TCRs (37,38)

Como se mencionó previamente, las células T son los principales mediadores de la EICH, y su eliminación, junto con su lenta reconstitución, favorece la disminución de la incidencia de EICH en los pacientes trasplantados. Sin embargo, su lenta recuperación y repertorio limitado favorece a su vez el incremento de infecciones, recaídas, la aparición de segundas malignidades y un aumento en la mortalidad asociada al trasplante. En este contexto, las células NK (y las células T $\gamma\delta$) son cruciales por su contribución a la inmunovigilancia y efectos ICT, disminuyendo las recaídas sin generar EICH (39).

Debido a que las células NK son los primeros linfocitos en reconstituirse y aparecer en circulación, además de influenciar las respuestas del sistema inmune innato y adaptativo, son células muy importantes dentro de la evolución del TCMH. De esta manera, se ha demostrado que los recuentos en el primer mes post-trasplante de células NK se asocian con la EICH, la mortalidad no asociada a recaídas y la supervivencia, ya que en aquellos pacientes con una disminución en el número total de células NK se aumenta la EICH y la mortalidad, disminuyendo por lo tanto la supervivencia (40,41). Adicionalmente, recuentos elevados de células NK se asocian con un menor número de infecciones bacterianas o virales.

4.2 Alorreactividad de las células NK

Para entender la asociación de las células NK con los diferentes desenlaces del TCMH, se han propuesto diferentes modelos que predicen la alorreactividad de células NK. La alorreactividad de las células NK se ha definido como la presencia de receptores KIR inhibidores en las células NK del donante y la ausencia de sus ligandos específicos de HLA en las células del receptor, lo que favorece la iniciación de una respuesta efectora contra las células carentes de ligandos, dentro de las que se pueden encontrar las células leucémicas residuales del receptor. Adicionalmente, la alorreactividad puede definirse por la presencia de receptores KIR activadores de las células NK y la presencia de sus ligandos, lo que desencadenaría una respuesta efectora, las cuales se asocian con una mejor respuesta ICT (42).

4.2.1 Modelos de alorreactividad de las células NK

Actualmente se han reportado varios modelos de alorreactividad y si bien cada uno de los modelos pretende explicar desde su perspectiva la importancia de la alorreactividad de las células NK en términos de la expresión de receptores activadores e inhibidores y de su interacción con los ligandos HLA-I, en el mejoramiento del pronóstico y la supervivencia del injerto, aún existen resultados contrastantes.

Generalmente, la alorreactividad de las células NK se ha abordado desde tres diferentes perspectivas, y desde cada una se han postulado distintos tipos de análisis en grupos de receptores y donantes para predecir las respuestas de las células NK. Los tres modelos son: (i) modelo de compatibilidad de ligandos o modelo ligando-ligando; (ii) modelo ligando – receptor KIR o (iii) modelo gen – gen KIR conocido también como receptor KIR – receptor KIR o de haplotipo (43) (**Figura 1**).

4.2.1.1 Modelo de compatibilidad de ligando - ligando

El modelo de compatibilidad de ligando propuesto por Ruggeri y su grupo de la Universidad de Perugia, predice la alorreactividad de las células NK del donante contra las células del receptor, cuando estas no presentan el ligando para los receptores tipo KIR. Por ejemplo, una célula NK del donante que expresa KIR2DL1 es “educada” o “licenciada” por células del donante que expresan el epítipo C2 en las moléculas HLA-C, por lo tanto, las células NK son tolerantes hacia este epítipo, y si las células del receptor expresan sólo epítipos C1 en moléculas HLA-C, se esperaría entonces que las células NK fuesen alorreactivas y activarán sus mecanismos efectoros. Este modelo evalúa la compatibilidad entre ligandos de receptores KIR inhibidores, los cuales son inferidos a partir de la compatibilidad para moléculas HLA clase I en individuos con un TCMH con donante haploide (44). Este modelo no es evaluado en los TCMH con donantes idénticos, porque los

epítomos Bw4, C1 y/o C2 son compartidos por ambos individuos, por lo que no se esperaría observar alorreactividad de las células NK (**Figura 1A**).

Una de las primeras investigaciones que evaluó el efecto de las células NK en TCMH alogénico con donantes haploidénticos fue realizada por el grupo de Ruggeri, quienes demostraron que en los pacientes con leucemias mieloides la presencia de células NK alorreactivas del donante se asociaba con una menor aparición de EICH, menores tasas de recaídas y una mayor supervivencia libre de enfermedad; y a su vez fue una de las primeras evidencias de la lisis de células leucémicas residuales por parte de las células NK alogénicas cuando existía incompatibilidad entre ligandos (45). Este efecto beneficioso de la incompatibilidad entre ligandos de receptores KIR en las leucemias mieloides ha sido confirmados por otros grupos (46) (**Tabla 1**).

Sin embargo, resultados que contradicen estas observaciones fueron obtenidos por Nowak y colaboradores, quienes demostraron que la ausencia de ligandos HLA en pacientes receptores de TCMH para receptores tipo KIR inhibidores presentes en las células NK del donante se asociaba con una menor supervivencia debido a la progresión de la enfermedad (47). Sin embargo, vale la pena resaltar las diferencias en los protocolos de trasplante, ya que solo en un 20% de los pacientes hubo eliminación de las células T previo al trasplante, lo que podría explicar los resultados contradictorios. Igualmente, en una cohorte de 1500 TCMH entre individuos no relacionados se observó que las incompatibilidades entre ligandos de KIR estuvieron asociadas con un incremento en EICH, mortalidad relacionada al tratamiento y una supervivencia libre de leucemia más corta (48) (**Tabla 1**).

4.2.1.2 Modelo de compatibilidad de ligando - receptor

El segundo modelo de compatibilidad ligando – receptor propuesto por Leung y su grupo predice la alorreactividad de las células NK del donante contra las células del receptor, cuando estas no presentan un ligando para los receptores tipo KIR, como en el modelo anterior. Sin embargo, en este caso no se infiere el receptor KIR inhibitorio de las células del donante, sino que es definido mediante genotipificación o fenotipificación. Por lo tanto, el HLA del donante en este modelo es irrelevante (49) (**Figura 1B**).

En relación a la alorreactividad de células NK según el modelo de compatibilidad ligando-receptor, Park y su grupo demostraron que las parejas donante-receptor que presentaban incompatibilidades en los receptores tipo KIR según el modelo de compatibilidad ligando-receptor, tenían mejor supervivencia libre de enfermedad con menor incidencia de recaídas (50). De igual manera, Chen y su grupo corroboraron este efecto benéfico, pero solo en pacientes con malignidad mieloide, donde los pacientes sin ligando HLA-C con epítomos C2 para el respectivo KIR inhibidor del donante, presentaban mayor supervivencia y menor mortalidad relacionada con

recaídas a enfermedad original (51). Se ha especulado que la falta de efectos benéficos en las malignidades linfoides es debido a la falta de la molécula de adhesión LFA-1 en blastos de LLA (45) (**Tabla 1**).

Asimismo, existe evidencia de la alorreactividad de células NK y la expresión de receptores KIR activadores (52). Se ha demostrado por ejemplo que en ausencia de alorreactividad de células NK, los receptores KIR activadores no tienen ningún efecto en el desenlace del trasplante. Sin embargo, en las parejas de donante receptor con células NK alorreactivas, los donantes con receptores KIR2DS1, KIR2DS2 y/o KIR3DS1 presentan menor riesgo de mortalidad, reducción en la incidencia de EICH, menor tasa de infecciones y mejor supervivencia libre de enfermedad (52-54) (**Tabla 1**).

4.2.1.3 Modelo de compatibilidad de gen - gen

El tercer y último modelo es el de compatibilidad gen – gen de receptores KIR descrito inicialmente por Gagne y su grupo y desarrollado por el grupo de Parham donde se predice la alorreactividad de las células NK a partir de las incompatibilidades entre los genotipos de los receptores tipo KIR, para lo cual es necesario realizar la genotipificación de estos genes tanto en el donante como en el receptor (55, 56) (**Figura 1C**). Ambos grupos han demostrado que pacientes trasplantados con donantes con haplotipo B de los receptores KIR tienen menores tasas de recaídas y mayor supervivencia. De igual manera, la presencia de dos o más motivos Cen B o Tel B en los donantes se asocian con mejores desenlaces (57, 58). En relación a genes activadores individuales, se ha demostrado que las incompatibilidades en los genes KIR2DL5 o KIR2DS1 se asocian con una mayor incidencia de EICH aguda, mientras que incompatibilidades en los genes KIR2DS3 se asocian con una disminución en la EICH (59) (**Tabla 1**).

Si bien para los otros modelos propuestos los resultados han sido contrastantes, en el modelo de compatibilidad gen-gen los resultados son indiscutibles, donde se ha evidenciado un rol positivo de la alorreactividad de las células NK en el contexto del TCMH con incompatibilidades a nivel génico entre pacientes y donantes. En términos generales, la incompatibilidad a nivel de genotipo (donantes con haplotipo B/x y receptores con haplotipo AA y viceversa) presenta una asociación significativa con disminución de EICH crónica, disminución en la incidencia de recaída y mayor supervivencia libre de recaídas (60,61). Dentro de estas incompatibilidades, se ha observado que los pacientes trasplantados con donantes con haplotipo B/x presentan una mayor supervivencia libre de enfermedad y menores tasas de recaída (62-67) (**Tabla 1**).

5. Perspectivas para la selección parejas receptor-donante según compatibilidad receptores KIR

Los diferentes modelos para predecir la alorreactividad de la célula NK han sido evaluados en diferentes centros trasplantadores, mostrando resultados no concluyentes acerca de la importancia de la alorreactividad de la célula NK; esto puede ser debido principalmente a las diferencias en los protocolos de trasplante de cada centro trasplantador, sin embargo, actualmente existe un consenso en la utilidad de la evaluación del modelo ligando-ligando para la elección de donantes en pacientes con malignidades mieloides en el contexto del trasplante haploidéntico; y la utilidad del modelo gen-gen para la selección de donantes en el contexto del TCMH idéntico y haploidéntico, donde se ha propuesto la selección de donantes que expresen el haplotipo del grupo B (donde predominan receptores KIR activadores) (68).

Numerosos estudios también han demostrado el papel de los polimorfismos de KIR y las combinaciones KIR-HLA en la susceptibilidad y resistencia a enfermedades de tipo infeccioso, autoinmunidad, cáncer, así como en la evolución del TCMH. Sin embargo, no existe ninguna evidencia sobre el papel de la alorreactividad de las células NK en los diferentes desenlaces del TCMH en Colombia. Además, hasta el momento sólo hay un reporte acerca de las frecuencias de genes KIR en poblaciones colombianas de tipo afrodescendiente y mestizo-caucásica pero no se analizó su papel en la susceptibilidad a enfermedades o evolución postrasplante (69).

A nivel mundial, el número de TCMH continúa incrementando con más de 25.000 trasplantes alogénicos efectuados anualmente. Según las estadísticas publicadas recientemente por el Instituto Nacional de Salud de Colombia, tan sólo entre los años 2010-2014 se han realizado un total de 1.814 TCMH, de los cuales 728 (40%) han sido alogénicos y 1.086 (60%) autólogos (70). De igual manera, se ha estimado que solo 3 de cada 10 pacientes tiene un donante idéntico, y solo hasta el 2019 se propuso una iniciativa para realizar un registro nacional de donantes no relacionados en Colombia por parte del Instituto Distrital de Ciencia, Biotecnología e Innovación en Salud (IDCBIS); por lo que en el 70% de los pacientes restantes el trasplante con donante haploidéntico ha sido esencial para el manejo de su enfermedad original. A pesar de esto, los estudios enfocados en mejorar los algoritmos de selección, y en el papel de otros sistemas polimórficos como los receptores KIR han sido limitados.

En Colombia, este tipo de trasplante se realiza desde hace más de 25 años con buenos resultados clínicos y buena supervivencia de los receptores, en donde de cada 100 pacientes sometidos a un primer TCMH hay un 62% de éxito, una cifra que es muy similar a las referenciadas en otras partes del mundo. Sin embargo, se espera que el porcentaje restante de los pacientes tenga algún tipo de recaída y por lo tanto pueda requerir de más trasplantes en una etapa posterior a causa de una remisión de la enfermedad original (70).

Parte del éxito logrado se fundamenta en la implementación y rigor de los análisis pre-clínicos y el estudio inmunológico pretrasplante, en el cual se estudian las moléculas del HLA. Hasta la década de los 80s se había establecido que solo hermanos HLA-idénticos podrían ser aceptados como donantes de células hematopoyéticas dado que el rechazo del trasplante y la aparición de la EICH eran las complicaciones comunes. Sin embargo, en las últimas tres décadas la implementación de técnicas como la eliminación de linfocitos T post-tímicos de la médula ósea del donante y el uso de inmunosupresión han posibilitado la implementación y éxito del TCMH con donantes haploidénticos, resultando en ausencia o menor frecuencia de EICH. La compatibilidad en las moléculas HLA resulta clave para reducir al máximo el desencadenamiento de una respuesta alógena mediada por células T y NK que conduzca al rechazo del trasplante, mientras que no se altera el establecimiento de la respuesta ICT. No obstante, aún en casos de compatibilidad completa (100% de alelos compatibles), se ha resaltado la importancia de considerar otros polimorfismos genéticos, particularmente el del complejo de receptores tipo KIR.

Si bien el análisis de polimorfismos de receptores KIR y sus respectivos ligandos no se efectúa de manera rutinaria en la mayoría de centros trasplantadores, trabajos realizados en algunos centros de trasplante alrededor del mundo han resaltado la importancia de considerar la variabilidad en el sistema KIR. La familia de genes KIR exhibe polimorfismos alélicos y de haplotipos tanto dentro como entre poblaciones.

Las evidencias previamente descritas sugieren que la respuesta ICT y supervivencia de los pacientes podrían ser optimizadas si además de los criterios de compatibilidad HLA convencionales, se pudieran seleccionar donantes que presentan además alorreactividad en receptores KIR y sus ligandos con su respectivo receptor o algunas combinaciones de haplotipos de receptores KIR. Por esto y debido a que no existen estudios en el país que evalúen el efecto de la alorreactividad de las células NK dependiente de la expresión de receptores KIR en el pronóstico y supervivencia de pacientes que recibieron TCMH, se propone investigar las frecuencias genotípicas y haplotípicas de los genes KIR en nuestra población de pacientes trasplantados y sus respectivos donantes, definir la alorreactividad de las células NK según los receptores KIR (basados en los tres modelos de alorreactividad) y determinar su asociación con el desenlace del trasplante.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas de los receptores tipo KIR en pacientes con TCMH y sus respectivos donantes en una unidad trasplantadora de la ciudad de Medellín?

¿La alorreactividad de las células NK según los receptores KIR definida por los modelos de compatibilidad se asocian con los diferentes desenlaces del TCMH?

HIPÓTESIS

A partir de las frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas de los receptores tipo KIR se pueden evaluar los diferentes modelos de compatibilidad para definir la alorreactividad de las células NK, la cual se asocia con mejores desenlaces del TCMH.

OBJETIVOS

1. General

Caracterizar los receptores tipo KIR y sus frecuencias en pacientes con TCMH y sus respectivos donantes, así como su compatibilidad y su asociación con los diferentes desenlaces del TCMH.

2. Específicos

2.1 Calcular las frecuencias genotípicas y haplotípicas de receptores tipo KIR en pacientes con TCMH y sus donantes estudiados en el Laboratorio de trasplantes como parte de su estudio pretrasplante.

2.2 Establecer la compatibilidad según los receptores tipo KIR basados en los modelos de alorreactividad de células NK entre los pacientes con TCH y sus respectivos donantes.

2.3 Determinar la asociación entre la compatibilidad según los receptores tipo KIR y los desenlaces de los pacientes con TCMH.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Tipo de estudio y población de estudio

Se realizó un estudio observacional retrospectivo de cohorte, para caracterizar los receptores tipo KIR en pacientes con TCMH en una unidad trasplantadora de la ciudad de Medellín con el propósito de determinar la compatibilidad entre pacientes y donantes basados en estos mismos receptores, y establecer la asociación entre la compatibilidad y la supervivencia de los pacientes.

La población de estudio fueron los pacientes trasplantados en el Instituto de Cancerología de la Clínica Las Américas de la ciudad de Medellín y sus respectivos donantes, y la selección fue realizada por conveniencia. Entre 2004 y 2018 fueron realizados 347 trasplantes en el Instituto de Cancerología, de los cuales 195 acudieron al Laboratorio de Inmunología de Trasplantes, GICIG, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, para la realización del estudio inmunológico pretrasplante. De estos, se incluyeron 161 pacientes con TCMH alogénicos de donantes relacionados HLA idénticos (88 donantes) o haploidénticos (73 donantes). Entre los pacientes y donantes se determinó la compatibilidad según los alelos HLA-A, -B, -C, -DR β , -DQ α y -DQ β . Se realizó un seguimiento de los pacientes de por lo menos 12 meses, donde se recopiló información demográfica, clínica e inmunológica de los pacientes y sus respectivos donantes.

Dado que se trata de un estudio retrospectivo, las 322 muestras de ADN de pacientes con TCMH y sus respectivos donantes correspondieron a muestras de ADN tomadas entre los años 2004 – 2018 que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión definidos a continuación.

1.1 Criterios de Inclusión

- Pacientes receptores de un primer trasplante de células hematopoyéticas con donante HLA idéntico o haploidéntico estudiados en el Laboratorio de Trasplantes del GICIG como parte del estudio inmunológico pretrasplante.
- Pacientes que recibieron el trasplante de células hematopoyéticas como estrategia de manejo de una enfermedad de base de carácter hematológico.
- Disponibilidad de muestra de ADN de los respectivos donantes de células hematopoyéticas, también estudiados en el Laboratorio de Trasplantes del GICIG como parte del estudio pretrasplante de su(s) receptor(es) correspondiente(s).

1.2 Criterios de Exclusión

- Contaminación de alguna de las muestras (receptor o donante).
- Muestra insuficiente o degradada (receptor o donante).
- Pacientes con un seguimiento clínico menor a 12 meses.

1.3 Consideraciones éticas

El proyecto fue considerado como riesgo mínimo, y fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto de Investigaciones Médicas de la Universidad de Antioquia y por el Comité de Ética Independiente del Instituto de Cancerología S.A. Ambos comités avalaron la revisión de las historias clínicas de los pacientes y el uso de las muestras de ADN de pacientes y donantes.

2. Extracción de ADN mediante el método de “Salting Out”

Diez mililitros de sangre venosa periférica de cada receptor y su donante fueron tomados en tubos con EDTA o ACD (BD Biosciences, San Diego CA). Cada muestra de sangre se transfirió a un tubo Falcon de 50 ml y se adicionó el Buffer de lisis I (sacarosa, Tris, y MgCl₂ (MP Biomedicals LLC, Santa Ana, CA); ácido clorhídrico (Gibco®-Life Technologies, Grand Island NY); y Triton X-100 (JT Baker, Phillipsburg NJ)) hasta completar un volumen final de 50 ml. Se realizó una centrifugación a 2400g durante 5 minutos a 4°C. El sobrenadante se descartó, para luego resuspender el sedimento en 4,5 ml de Buffer de lisis II (NaCl (Merck Millipore, Burlington MA); y EDTA (Sigma Aldrich, St. Louis MO)), junto con 125 µl de SDS (MP Biomedicals LLC, Santa Ana CA) y 1,1 ml de NaClO₄ (PanReac AppliChem, Chicago ILL), se agitó durante 10 segundos a temperatura ambiente. Luego se adicionaron 2 ml de NaCl 6 M (para precipitar las proteínas), se agitó nuevamente durante 15 segundos y se centrifugó a 1500g por 5 minutos a 20°C. El sobrenadante se recuperó (sin extraer el sedimento) y se adicionaron 7 ml de isopropanol absoluto (Merck Millipore, Burlington MA), mezclando suavemente. El ADN que se precipitó fue recuperado con una pipeta pasteur de vidrio y se lavó dos veces con 3 ml de etanol al 70% (JT Baker, Phillipsburg NJ) en cada ocasión. El ADN finalmente se resuspendió en 400 µl de agua grado molecular (Merck Millipore, Burlington MA) y se incubó por 20 minutos a 55°C. Este ADN fue almacenado a -20°C desde su extracción hasta su uso en la genotipificación de los receptores KIR y del alelo HLA-C cuando fue necesario.

3. Verificación de la integridad y cuantificación del ADN

Las muestras de ADN fueron verificadas en términos de integridad y concentración. La integridad se verificó mediante un corrido de las muestras en geles de agarosa (Lonza, Basel SZ) al 2% en presencia de Gel Red (Biotium, Fremont CA). Para la preparación de los geles, se utilizaron 3,8 g de agarosa, 9 ml de buffer TBE al 10X (Tris (Gibco®-Life Technologies, Grand Island NY), ácido bórico (H₃BO₃) y EDTA (Sigma Aldrich, St. Louis, MO)), 171 ml de agua desionizada y 3 µl de Gel Red. El buffer de corrido fue preparado adicionando 125 ml de buffer TBE 10X a 2500 ml de agua desionizada. Para la electroforesis, se realizó una mezcla de ADN – buffer de carga (Promega, Madison WI) en una relación 6:1. Las condiciones utilizadas para la electroforesis fueron 90 voltios durante 2 horas, para permitir la migración del ADN (**Figura 2A**).

Para la cuantificación del ADN se realizó la verificación mediante el uso del Nanodrop. Como blanco se utilizó 1 µl de agua grado molecular (Merck Millipore, Burlington, MA). Las concentraciones de ácidos nucleicos de cada muestra fueron obtenidas mediante la medición de 1 µl de muestra. De igual manera de obtuvieron dos índices de absorbancia (A₂₆₀/A₂₈₀ y A₂₆₀/A₂₃₀) (**Figura 2B**).

Las muestras en las cuales se observó una concentración mínima de 500 ng en total y la presencia de una única banda en la electroforesis fueron seleccionadas para realizar la genotipificación de los receptores KIR y HLA-C cuando fue necesario.

4. Genotipificación HLA-C y KIR

4.1 HLA-C

Como parte de los estudios pre-trasplante, los pacientes con TCMH y sus respectivos donantes fueron tipificados para los alelos HLA-A, -B, -DRβ, -DQβ y -DQα mediante PCR-SSP (primers específicos de secuencia) o PCR-SSO (sonda de oligonucleótidos específica de secuencia). En el caso particular del alelo HLA-C, se había realizado la genotipificación sólo a partir al 2013 mediante PCR-SSO. En total, 88 parejas de receptor-donante no habían sido previamente genotipificadas para el alelo HLA-C. Debido a la importancia de los epítomos presentes en este alelo, se realizó su genotipificación mediante el método de PCR-SSO, usando el kit Lifecodes HLA-C eRES SSO Typing Kit de Immucor (Peachtree Corners, GA). Para la amplificación, por muestra se adicionaron 6 µl de mezcla maestra, 8,8 µl de agua grado molecular y 0,2 µl de taq polimerasa. A esta preparación se le adicionó el ADN extraído previamente para alcanzar una concentración final de 80 ng de ADN en un

volumen final de 20 μ l. El programa de amplificación utilizado en el termociclador fue el siguiente:

| Paso | Temperatura y período de incubación | Cantidad de ciclos |
|------|-------------------------------------|--------------------|
| 1 | 95° C por 3 min | 1 |
| 2 | 95° C por 15 s | 12 |
| | 60° C por 30 s | |
| | 72° C por 30 s | |
| 3 | 95° C por 10 s | 28 |
| | 63° C por 30 s | |
| | 72° C por 30 s | |
| 4 | 72° C por 2 min | 1 |
| 5 | 4° C infinito | 1 |

Para verificar que la muestra fue amplificada, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 2% con Gel Red durante 17 minutos a 300V (**Figura 2C**).

Para la hibridación, la mezcla de sondas fue calentada a 55°C durante 10 minutos para solubilizar sus componentes y fue tratada con ultrasonido por 15 segundos y agitada en vortex durante el mismo tiempo (esto para suspender por completo las microesferas donde están unidas las sondas de oligonucleótidos específicas de secuencia). Para cada muestra se combinaron 15 μ l de la mezcla de sondas con 5 μ l del producto de amplificación. El programa de hibridación utilizado en el termociclador fue el siguiente:

A 97 °C durante 2 minutos
 A 47 °C durante 10 minutos
 A 56 °C durante 8 minutos
 MANTENER A 56 °C

En el paso final a 56°C cada muestra fue diluida con 170 μ l de mezcla preparada de solución diluyente y PE-estreptavidina (SA-PE) (170 μ l de solución diluyente y 0,85 μ l de SA-PE). Las muestras fueron sacadas del termociclador y analizadas en el equipo Luminex® 200™.

4.2 KIR

Para la genotipificación de los receptores KIR de las 322 muestras de ADN de receptores y sus respectivos donantes se utilizó el estuche comercial Gen-Probe Lifecodes KIR-SSO typing Immucor (Peachtree Corners, GA), el cual permitió identificar la presencia o ausencia de los genes *KIR3DP1* y *KIR3DL3* (controles

positivos), *KIR2DL1*, *KIR2DL2*001-3/5*, *KIR2DL2*004*, *IR2DL3*, *KIR2DL4*, *KIR2DL5*, *KIR2DP1*, *KIR3DL1*, *KIR3DL2*, *KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS4*whole exon 4*, *KIR2DS4*whole exon 5*, *KIR2DS4*-deleted exon 5*, *KIR2DS5*, *KIR3DS1*, *KIR3DS1*049N*.

La amplificación de los loci KIR se dividió en dos reacciones de amplificación que utilizan la mezcla maestra KIR-1 y la mezcla maestra KIR-2. Por muestra se adicionaron 6 µl de mezcla maestra KIR-1 o KIR-2, 8,8 µl de agua grado molecular y 0,2 µl de taq polimerasa. A cada preparación se adicionó el ADN extraído previamente para alcanzar una concentración final de 50 ng de ADN en un volumen final de 20 µl. El programa de amplificación utilizado en el termociclador fue el siguiente:

| Paso | Temperatura y período de incubación | Cantidad de ciclos |
|------|-------------------------------------|--------------------|
| 1 | 95° C por 3 min | 1 |
| 2 | 95° C por 15 s | 12 |
| | 60° C por 30 s | |
| | 72° C por 30 s | |
| 3 | 95° C por 10 s | 28 |
| | 63° C por 30 s | |
| | 72° C por 30 s | |
| 4 | 72° C por 2 min | 1 |
| 5 | 4° C infinito | 1 |

Para la hibridación, la mezcla de sondas fue calentada a 55°C durante 10 minutos para solubilizar sus componentes y fue tratada con ultrasonido por 15 segundos y agitada en vortex durante el mismo tiempo. Para cada muestra se combinaron 12µl de la mezcla de sondas con 5 µl del producto de amplificación de cada reacción (KIR-1 o KIR-2). Las muestras fueron hibridadas en el termociclador a 56°C durante 20 minutos. Luego de este tiempo, cada muestra fue diluida con 170 µl de mezcla preparada de solución diluyente y SA-PE (170 µl de solución diluyente y 0,85 µl de SA-PE). Tras la hibridación, las muestras fueron sacadas del termociclador y analizadas en el equipo Luminex® 200™.

5. Construcción de haplotipos de receptores KIR y cálculo de frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas

Debido a que la genotipificación de los genes de receptores KIR se basa en su presencia o ausencia, la ambigüedad de fase para la inferencia de los haplotipos

presentes en cada individuo se resolvió mediante el algoritmo HAPLO-IHP (inferencia de haplotipos usando patrones de haplotipos) desarrollado por el grupo de Zhang (disponible en: <https://www.soph.uab.edu/sites/edu.ssg/files/People/KZhang/HAPLOIHP/haploihp-index.html>).

Este método para la inferencia de haplotipos se basa en la aplicación de dos algoritmos, el algoritmo voraz (greedy algorithm), que con un conjunto de haplotipos iniciales y patrones para la construcción de haplotipos, define un número mínimo de haplotipos con los que pueden resolverse todos los genotipos estudiados. Posteriormente se aplica el algoritmo de esperanza-maximización (EM algorithm) para estimar la frecuencia de los haplotipos y asignar cada par de haplotipos a cada individuo según sus probabilidades (71).

Los haplotipos de referencia han sido identificados a través de análisis de segregación y secuenciación y han sido observados entre los grupos étnicos principales, explicando hasta el 90% de la variación haplotípica observada a nivel poblacional (72, 73). Los haplotipos de referencia utilizados para la inferencia de los haplotipos de genes KIR en los 322 receptores y donantes fueron los siguientes:

| Haplotipos | KIR3DL3 | KIR2DS2 | KIR2DL2 | KIR2DL3 | KIR2DP1 | KIR2DL1 | KIR3DP1 | KIR2DL4 | KIR3DL1 | KIR3DS1 | KIR2DL5 | KIR2DS3 | KIR2DS5 | KIR2DS4 | KIR2DS1 | KIR3DL2 |
|------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 12 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 13 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 14 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 15 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 16 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 17 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 18 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 19 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 21 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 22 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 23 | | | | | | | | | | | | | | | | |

A partir de los resultados de estudios de desequilibrio de ligamiento en el clúster de genes de receptores KIR, se usaron los siguientes lineamientos para la construcción de haplotipos: i) el gen KIR3DL3 y el gen KIR3DL2 están presentes en todos los haplotipos, ii) los genes KIR2DL5-KIR2DS3 y KIR2DL5-KIR2DS5 tienen un desequilibrio de ligamiento completo, iii) los genes KIR2DL2 y KIR2DL3 tienen un desequilibrio de ligamiento negativo completo, iv) los genes KIR2DS4 y KIR3DL1 tienen un desequilibrio de ligamiento completo (74).

Por otra parte, se realizó la estimación de las frecuencias génicas para todos los loci de KIR a partir de los genotipos obtenidos para cada individuo analizado. Para esta estimación se realizó un conteo directo (CD) de la presencia de cada gen en todos los individuos, y la frecuencia génica (FG) fue calculada con la siguiente fórmula $FG = 1 - \sqrt{1 - CD}$. Los intervalos de confianza fueron calculados con la fórmula $IC = FG \pm \varepsilon \sqrt{FG(1 - FG)/n}$ donde ε es el valor de la significancia estadística.

Las frecuencias genotípicas y haplotípicas fueron obtenidas por conteo directo de los genotipos de cada receptor y donante (como resultado de la genotipificación) y por el conteo directo de los haplotipos inferidos, respectivamente.

6. Determinación de la compatibilidad según los receptores tipo KIR por cada modelo de alorreactividad de células NK

6.1 Compatibilidad según el modelo ligando-ligando

La compatibilidad según este modelo fue determinada con ayuda del software KIR LIGAND CALCULATOR del Instituto Bioinformático Europeo (EMBL-EBI) (disponible en: <https://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/ligand.html>). Mediante este software se determinó la presencia de los epítomos Bw4, C1 o C2 en los alelos HLA-B y HLA-C tipificados (todos los alelos HLA-C tienen el epítomo C1 o C2, mientras que la mayoría de los alelos de HLA-B tienen el epítomo Bw4 o Bw6). El software no evalúa la presencia de epítomos en el alelo HLA-A, sin embargo, se ha descrito la presencia del epítomo Bw4 en los alelos HLA-A*23/24/32, los cuales fueron tenidos en cuenta para los análisis. Se consideró compatibilidad cuando el receptor y su respectivo donante compartían los mismos epítomos.

6.2 Compatibilidad según el modelo ligando – receptor KIR

La compatibilidad según este modelo fue definida como la presencia de receptores KIR inhibidores en el donante de CMHs en conjunto con la presencia de su respectivo ligando (basados en los epítomos) en el receptor del trasplante, o la presencia de receptores KIR activadores en el donante con la ausencia de su respectivo ligando en el receptor. Se consideró compatibilidad cuando el gen KIR2DL1, KIR2DL2/3 y

KIR3DL1 estaba presente en el donante y el epítipo C2, C1 y Bw4 estaba presente en el receptor respectivamente, y cuando el gen KIR2DS1 y KIR2DS2 estaba presente en el donante y el epítipo C2 y C1 estaba ausente en el receptor respectivamente.

6.3 Compatibilidad según el modelo gen – gen KIR

La compatibilidad fue determinada según los haplotipos KIR. Se consideró compatibilidad cuando el receptor y donante compartían el mismo haplotipo (receptor con haplotipo AA trasplantado con donante con haplotipo AA y receptor con haplotipo B/x trasplantado con donante con haplotipo B/x).

7. Análisis estadísticos

7.1 Variables de estudio

Las variables del estudio se agruparon en tres categorías: variables demográficas (edad del receptor y donante, género del receptor y donante, tipo de donante y relación del trasplante según el género); variables clínicas (seguimiento y supervivencia en meses, fuente de células hematopoyéticas, grupo sanguíneo del receptor y donante, estatus serológico CMV, enfermedad original, índice de riesgo de enfermedad (DRI), comorbilidades, régimen condicionante, tratamiento profiláctico EICH, desenlaces y tiempo de seguimiento hasta desenlace); y variables inmunológicas (PRA cualitativo clase I y clase II, PRA antígeno único clase I y clase II, incompatibilidad grupo sanguíneo, incompatibilidad HLA, haplotipos KIR receptor y donante, modelos de compatibilidad según receptores KIR (ligando-ligando, ligando-receptor y gen-gen).

A partir de las bases de datos y del seguimiento a los pacientes trasplantados realizado por la Clínica Las Américas y el laboratorio de trasplantes del GICIG, se ordenó la información necesaria para la construcción de la base de datos final. Dicha base de datos se digitó en un archivo de Microsoft Excel formato XLS.

7.2 Análisis de las variables de estudio

El análisis de las variables se realizó de acuerdo a su naturaleza: las variables cualitativas fueron analizadas por medio de frecuencias absolutas y relativas. Las variables cuantitativas fueron resumidas mediante sus medianas y rangos intercuartílicos.

Para el análisis de las diferentes variables incluidas en el estudio, se utilizó el programa estadístico SPSS versión 23.

7.3 Análisis de Supervivencia

Para los análisis de supervivencia se consideraron como eventos la supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad, mortalidad no relacionada a recaída, EICH aguda, EICH crónica y recaída. La supervivencia libre de enfermedad fue definida como la supervivencia libre de EICH o recaída. La EICH aguda y crónica fue diagnosticada según los criterios definidos por el grupo de trabajo de diagnóstico y clasificación de los Institutos Nacionales de la Salud (NIH, del inglés *National Institutes of Health*) (75). La recaída, mortalidad, mortalidad no relacionada a recaída, y rechazo fueron definidos según criterios estándar.

En estos análisis se censuraron los datos de acuerdo a las siguientes características:

- Pérdidas: deciden retirarse voluntariamente y no aportan información durante el seguimiento o no fue posible contactarlos por causas como: cambio de residencia, número telefónico, celular, no asistencia a controles de seguimiento postrasplante en la unidad trasplantadora, por tanto, se desconoció el estado del trasplante.
- Ausencia del evento: no se presentaron los eventos de interés, dado que no se conoció su tiempo de supervivencia para la variable de estudio.

Para estimar las funciones de supervivencia se utilizaron dos métodos no paramétricos: el actuarial y el de Kaplan Meier.

7.3.1 Método Actuarial

Mediante la aplicación del método actuarial se estimó la función de supervivencia acumulada (St), que corresponde a la supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad, mortalidad no relacionada a recaída o presentar EICH aguda, EICH crónica o recaída en los meses de estudio. Para este caso se considera que la distribución de los datos puede ser no normal y no hay censura informativa, es decir que los datos censurados se comportan igual que si llegaron a obtener un desenlace. Se estimó la mediana de supervivencia, para el tiempo de seguimiento en el cual el 50% de los pacientes trasplantados se mantienen sin presentar los eventos evaluados.

7.3.2 Método de Kaplan Meier

Se utilizó el método de Kaplan Meier para la estimación de la función de supervivencia acumulada (St) y se aplicó la prueba Log – Rank test para la comparación de las funciones y curvas de supervivencia de dos o más grupos dentro de una misma variable (la hipótesis nula es la igualdad entre las supervivencias de cada uno de los eventos de interés). Los resultados obtenidos fueron resumidos en tablas para cada desenlace y se obtuvieron los gráficos de supervivencia para las variables que mostraron asociación significativa ($p \leq 0,05$).

A diferencia del método actuarial, donde se divide el tiempo en intervalos y se calcula la supervivencia de cada uno de los intervalos, el método de Kaplan Meier calcula la supervivencia cada vez que un paciente experimenta el evento de interés, por lo tanto, calcula proporciones exactas de supervivencia debido a que utiliza tiempos de supervivencia precisos. El método de Kaplan Meier es comúnmente utilizado en muestras mayores de 30 y cuando se conocen los tiempos individuales de cada participante. En el caso del método actuarial, los tiempos de supervivencia se agrupan en intervalos, por lo que no se dispone del tiempo del evento de cada individuo, sino del número de eventos en cada intervalo de tiempo (76).

7.4 Análisis de la supervivencia multivariante. Modelo de riesgos proporcionales de Cox

Se implementó el modelo de riesgos proporcionales de Cox, para definir las variables independientes que se relacionan con la función de supervivencia respecto a la supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y mortalidad no relacionada a recaída.

Se eligieron como variables candidatas a conformar el modelo aquéllas que en el análisis de Kaplan Meier presentarán un valor de $p \leq 0,25$ (criterio de Hosmer – Lemeshow). Adicionalmente, aquellas variables que presentaban evidencia científica de asociación con cada uno de los eventos se consideraron como variables candidatas. Se aplicó el método de regresión de Cox al conjunto de variables seleccionadas, utilizando el método Enter, y se observó la contribución que cada una de las variables proporcionaba al modelo. La medida de la asociación epidemiológica utilizada fue el Hazard Ratio.

7.4.1 Supuestos para validación de la Prueba en los Riesgos de Cox:

En el modelo de riesgos proporcionales de Cox se validaron los siguientes supuestos:

- La razón de riesgos, para cualquier variable “x”, es constante a través del tiempo, es decir que el riesgo de falla es proporcional al del grupo de comparación.
- En términos de las probabilidades de supervivencia, la curva de supervivencia de un grupo debe estar siempre por encima de la curva de supervivencia del otro grupo; éstas no se pueden cruzar. Si este supuesto no se cumple, entonces se deben tener estimaciones para diferentes períodos, por lo que se debe utilizar el modelo de Cox extendido.
- La proporcionalidad se evaluó mediante las líneas del gráfico de las curvas de supervivencia, donde las líneas deben ser aproximadamente paralelas.
- Es posible estimar los riesgos relativos de falla ajustados, correspondientes a las diferentes variables independientes consideradas.

7.5 *Análisis de riesgos competitivos*

Como es común en el TCMH, los receptores están sujetos a múltiples desenlaces negativos (asociados con la enfermedad o no). Por lo tanto, para evaluar la asociación de los modelos de compatibilidad según los receptores KIR con desenlaces específicos (EICH aguda, EICH crónica, recaída y rechazo), se tuvieron en cuenta los riesgos competitivos. Los riesgos competitivos se producen cuando la aparición de un evento modifica la capacidad de observar el evento de interés. El rechazo, la recaída o la muerte antes de la EICH aguda o EICH crónica fueron considerados como riesgos competitivos para EICH. El rechazo, o muerte no relacionada a recaída fueron considerados como riesgos competitivos para recaída. Los análisis multivariados de los desenlaces específicos de causa previamente mencionados fueron basados en el modelo de regresión de riesgos competitivos de Fine y Gray, usando el software STATA (Statacorp, College Station TX).

RESULTADOS

1. Características de los receptores de TCMH y sus donantes según variables demográficas, clínicas e inmunológicas.

Para la realización de este estudio se analizaron muestras de 161 parejas de receptores y donantes trasplantados en el Instituto de Cancerología de la Clínica las Américas de la ciudad de Medellín-Colombia, durante el periodo comprendido entre los años 2004 y 2018. Las características demográficas, clínicas e inmunológicas de los receptores y donantes de esta cohorte se presentan en las **Tablas 2, 3 y 4** respectivamente. Los hallazgos más relevantes fueron los siguientes: en relación al estado del trasplante según el género, 31,1% de los trasplantes fue realizado entre receptores y donantes mujeres, 21,7% entre receptores y donantes hombres, 28% entre receptores mujeres y donantes hombres y 19,3% entre receptores hombres y donantes mujeres (**Tabla 2**).

Con respecto a las características clínicas, el tiempo medio de seguimiento donde el 50% de las muertes ocurrió fue de 96,8 meses. Dentro de estas características clínicas se observó que el 54,7% de los trasplantes fue realizado con donante idéntico y 45,3% con donante haploidéntico. La principal fuente para la obtención de células hematopoyéticas fue sangre periférica (96,3% de los trasplantes). En relación a la enfermedad original, en 34,2% de los receptores se diagnosticó leucemia mieloide aguda o mielodisplasia, en 32,9% leucemia linfoblástica aguda, en 10,6% algún tipo de leucemia crónica o linfoma, en 3,1% mielofibrosis y en 19,2% alguna enfermedad benigna (por ejemplo, anemia aplásica, anemia de Fanconi, talasemia, hemoglobinuria paroxística nocturna, entre otras). En relación al régimen condicionante, 33,5% de los receptores recibieron un régimen mieloablatoivo, 6,2% un régimen no mieloablatoivo y 60,3% un régimen condicionante de intensidad reducida. Adicionalmente, 58,4% de los receptores recibieron como tratamiento profiláctico para EICH ciclosporina, y 41,6% recibió ciclosporina más micofenolato (**Tabla 3**).

Dentro de los desenlaces evaluados, el 35,4% de los receptores presentaron EICH aguda en una mediana de tiempo de 10,2 meses (0,6 – 20,1 meses), y de estos, 3,1% desarrollaron un segundo episodio; 29,2% presentaron EICH crónica en una mediana de tiempo de 11,9 meses (2,2 – 23,9 meses), y de estos, 5,6% desarrollaron un segundo episodio y 1,9% un tercer episodio; 19,3% presentaron recaídas a enfermedad original en una mediana de tiempo de 22,1 meses (0,3 – 77,3 meses) y 5% presentaron rechazo del injerto (**Tabla 3**).

Dentro de las variables inmunológicas se evaluó el grado de incompatibilidades en el HLA en el grupo de receptores con donante haploidéntico, donde 31% fueron trasplantados con 5 de 10 o 6 de 12 incompatibilidades, dependiendo de los alelos clasificados para el HLA. El 1,9% de los receptores fueron trasplantados con 1 incompatibilidad (9/10 u 11/12), 2,5% con 2 incompatibilidades (8/10 o 10/12), 5% con 3 incompatibilidades (7/10 o 9/12) y 5,6% con 4 incompatibilidades (6/10 u 8/12) (**Tabla 4**).

Con respecto a los receptores KIR, se observó que el haplotipo B/x de los receptores KIR era el más común tanto en receptores como donantes (85,7% y 87% respectivamente). De los modelos de compatibilidad basados en los receptores KIR se observó que en 71 de los 73 trasplantes realizados con donantes haploidénticos, hubo compatibilidad ligando – ligando de KIR en 42,5% de los trasplantes e incompatibilidad en 54,8%, mientras que según el modelo de compatibilidad ligando – receptor KIR hubo compatibilidad en 64,8% de los trasplantes e incompatibilidad en 35,2%. Por último, de los 161 trasplantes, hubo compatibilidad gen – gen de receptores KIR en 81,4% de los trasplantes e incompatibilidad en 18,6% (**Tabla 4**).

2. Frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas de receptores KIR.

En relación a las frecuencias génicas calculadas a partir de los datos de genotipificación, se observó en el grupo de los receptores, que los genes *KIR3DL3*, *KIR3DP1*, *KIR2DL4* y *KIR3DL2* estuvieron presentes en todos los pacientes. Los genes más frecuentes en los pacientes fueron: y las frecuencias de los otros genes fueron: *KIR2DP1* (80,7%), *KIR2DL1* (80,7%), *KIR3DL1* (71,6%), *KIR2DS4* (71,6%) y *KIR2DL3* (67,5%) (**Tabla 5**). En el grupo de donantes, la frecuencia de los genes *KIR3DL3*, *KIR3DP1*, *KIR2DL4* y *KIR3DL2* fue la misma que en el grupo de los receptores, mientras que los genes con mayor frecuencia: *KIR2DP1* (77,7%), *KIR2DL1* (77,7%), *KIR3DL1* (75,1%), *KIR2DS4* (73,9%) y *KIR2DL3* (66,6%) (**Tabla 6**).

Dentro de los criterios necesarios para los análisis sobre frecuencias genotípicas y haplotípicas a nivel poblacional, se encuentra la selección de individuos no relacionados con el fin de evitar sesgos y garantizar la representatividad de la población estudiada. Por esta razón, los análisis sobre las frecuencias genotípicas y haplotípicas se realizaron únicamente en el grupo de donantes; sin embargo, en las tablas 5, 6, 7 y 8 se resumen los resultados tanto de receptores como de donantes.

Los genotipos se organizaron de acuerdo al número de *loci* presentes. En total fueron identificados 45 genotipos, 33 de ellos identificados en el grupo de receptores (**Tabla 5**) y 37 en el grupo de donantes (**Tabla 6**). Los genotipos más frecuentes en el grupo

de los donantes fueron el 24 (19,2%), el 41 (17,4%), el 3 (12,4%), el 4 (7,4%), el 7 (6,8%), el 45 (5%), y los genotipos 14, 25, 29 y 42 (cada uno con una frecuencia del 2,5%) (**Tabla 6**).

De los genotipos identificados en el grupo de los donantes, cabe destacar que tres genotipos no han sido descritos previamente (genotipo 2, 6 y 23). Adicionalmente, el genotipo 31 solo ha sido descrito en un individuo de una población africana (77). En relación al genotipo 2, este coincide con un genotipo de un individuo de una población europea (78); sin embargo, no se ha confirmado la presencia de los genes *KIR2DP1* y *KIR3DP1*. Los genotipos 6 y 23 no coinciden con ningún genotipo identificado previamente. Nuestro genotipo 6 se caracteriza por la ausencia de los genes *KIR2DS1*, *KIR2DS3*, *KIR2DS5*, *KIR2DL1*, *KIR2DL5* y *KIR2DP1*; mientras que el genotipo 23 se caracteriza por la ausencia de los genes *KIR2DS3*, *KIR2DS4*, *KIR2DL1* y *KIR2DP1* (**Tabla 6**).

De igual manera, mediante el algoritmo HAPLO-IHP se realizó la inferencia de los haplotipos presentes en nuestra población de pacientes receptores (**Tabla 7**) y donantes (**Tabla 8**) de TCMH, a partir de los resultados de genotipificación. Con los 45 genotipos de receptores y donantes y a partir de 23 haplotipos de referencia, se predijo la presencia de 25 haplotipos (17 haplotipos de referencia y 8 haplotipos inferidos). Según este algoritmo, los haplotipos de referencia 5, 9, 13, 14, 22 y 23 no estuvieron presentes en nuestra población. Los 8 haplotipos inferidos fueron nombrados arbitrariamente del H1 al H6 (haplotipos que resuelven un individuo junto con un haplotipo de referencia) y C1 ó C2 (haplotipos que resuelven un individuo con haplotipos que no estaban en la lista de referencia).

Al analizar las frecuencias de los haplotipos en el grupo de donantes, los haplotipos más frecuentes corresponden a los haplotipos de referencia (los cuales explican hasta el 90% de la variación haplotípica a nivel poblacional, como se mencionó anteriormente). En nuestra población de receptores y donantes, los haplotipos de referencia explican el 97,5% de la variación haplotípica, y dentro del grupo de donantes, explican el 97,2% de dicha variación. Los haplotipos más frecuentes en el grupo de donantes, corresponden al haplotipo cA01~tA01 (haplotipo A, 41,6%); haplotipo cA01~tB01 2DS5 (16,5%); haplotipo cB02~tB01 (haplotipo B, 10,9%); haplotipo cB02~tA01 (haplotipo B, 9,9%); haplotipo cA01~tB05 (haplotipo B, 5,9%) y al haplotipo cB01~tA01 2DS3 (haplotipo B, 5%) (**Tabla 8**).

En el grupo de donantes se infirieron 6 nuevos haplotipos a partir de los genotipos identificados, los cuales representan el 2,8% de los haplotipos inferidos. Los haplotipos H1 y H2 son similares al haplotipo cA02~tB05, pero ambos haplotipos no presentan el gen 2DP1, y el haplotipo H2 presenta el gen 2DS2. El haplotipo H3 es similar al haplotipo cA02~tB01 2DS5, con la ausencia del gen 2DP1. El haplotipo H4

es similar al haplotipo cB02~tB05, pero con la ausencia del gen 2DL2 y la presencia de los genes 2DL3 y 2DS5. El haplotipo C1 es similar al haplotipo cB03~tB05, pero con la ausencia del gen 2DL3 y la presencia del gen 2DS1. Por último, el haplotipo C2 es similar al haplotipo cA01~tA01, pero con la presencia del gen 2DL5.

A partir de los resultados de la inferencia de haplotipos, se realizaron nuevamente los cálculos de las frecuencias génicas (solo por conteo directo) para validar los haplotipos identificados mediante el algoritmo HAPLO-IHP. Los resultados obtenidos mediante la estimación con la fórmula $FG = 1 - \sqrt{1 - CD}$ y mediante el conteo directo a partir de los haplotipos inferidos fueron similares (**Tabla 5 y 7; Tabla 6 y 8**).

3. Compatibilidad según los receptores tipo KIR basados en los modelos de alorreactividad de células NK.

Para establecer la compatibilidad según el modelo ligando – ligando (**Tabla 9**), se realizó la identificación de los epítomos Bw4, C1 y C2 a partir de la genotipificación del HLA clase I en receptores de TCMH con donante haploide (73 parejas de receptores y sus respectivos donantes). En 2 de los receptores no se logró realizar la genotipificación del alelo HLA-C. La compatibilidad fue definida por la presencia de los mismos epítomos tanto en donante como en el receptor. Adicionalmente, se predijo la dirección de la alorreactividad de las células NK (injerto contra hospedero (ICH), la cual identifica individuos con un mayor riesgo de desarrollar EICH; u hospedero contra injerto (HCI), la cual identifica aquellos individuos con un mayor riesgo de rechazo).

En 31 de 71 parejas de receptores y donantes se encontró compatibilidad entre los ligandos de KIR (43,66%), mientras que en las 40 parejas restantes (56,34%) se observó incompatibilidad; de las cuales 20 eran en dirección ICH (28,17%) y 20 en dirección HCI (28,17%). En dos individuos se predijo una alorreactividad en ambas direcciones (2,81%). Dentro de la alorreactividad ICH, en 5 parejas se predijo una respuesta Bw4 (ICH Bw4), en 5 parejas una respuesta C1 (ICH C1), en 9 parejas una respuesta C2 (ICH C2) y en 1 pareja una respuesta Bw4 y C2 (ICH Bw4 C2). Dentro de la alorreactividad HCI, en 5 parejas una respuesta Bw4 (HCI Bw4), en 7 parejas una respuesta C1 (HCI C1), en 7 parejas una respuesta C2 (HCI C2) y en 1 pareja una respuesta Bw4 C2 (HCI Bw4 C2) (**Tabla 9**).

Por otra parte, para establecer la compatibilidad según el modelo ligando – receptor (**Tabla 10**), se realizó la identificación de los epítomos Bw4, C1 y C2 a partir de los perfiles génicos del HLA clase I de los receptores de TCMH con donante haploide, y la identificación de los perfiles génicos de KIR en los respectivos donantes. La compatibilidad fue definida como la presencia de receptores KIR

inhibidores y activadores en el donante, con la presencia (1) y ausencia (0) de sus ligandos en el receptor respectivamente.

Se evaluaron en total 71 parejas de receptores y donantes, de los cuales 46 presentaron compatibilidad entre ligandos y receptores KIR (64,79%). En las 25 parejas restantes se observó incompatibilidad según este modelo (35,21%). Dentro de estas 25 incompatibilidades, la incompatibilidad KIR2DL1^{+D}/C2^{-R} fue encontrada en 4 parejas donante/receptor; KIR2DL2/3^{+D}/C1^{-R} en 4 parejas; KIR2DL3^{+D}/C1^{-R} en una pareja; KIR3DL1^{+D}/Bw4^{-R} en otras 4 parejas; KIR2DS1^{+D}/C2^{+R} en 7 parejas, y KIR2DS2^{+D}/C1^{+R} en tres parejas. Las dos parejas restantes presentaron una incompatibilidad combinada de KIR2DL1^{+D}/C2^{-R} y KIR3DL1^{+D}/Bw4^{-R} (**Tabla 10**).

Finalmente, para determinar la compatibilidad según el modelo gen – gen KIR se consideró la genotipificación de estos receptores KIR en las 161 parejas de receptores y donantes (**Tabla 11**). La compatibilidad fue definida según la compatibilidad entre haplotipos (receptor y donante con haplotipo AA, y receptor y donante con haplotipo B/x). De las 161 parejas, en 131 se encontró compatibilidad según este modelo (81,37%). En las 30 parejas restantes (18,63%), se observó que 14 receptores con haplotipo B/x fueron trasplantados con donantes con haplotipo AA, y 16 receptores con haplotipo AA fueron trasplantados con donantes con haplotipo B/x (**Tabla 11**).

En resumen, como se puede observar en la **tabla 12**, los principales hallazgos son: 40 de 71 parejas (56,34%) de receptores y donantes haploidénticos con incompatibilidad según del modelo ligando – ligando; 25 de 71 parejas (35,21%) del total de receptores y donantes con incompatibilidad según el modelo ligando – receptor; y 30 de 161 parejas (18,63%) con incompatibilidad según el modelo gen – gen KIR.

4. Asociación entre la compatibilidad según los receptores tipo KIR y los diferentes desenlaces del TCMH.

4.1 Análisis de supervivencia.

En el total de pacientes trasplantados la mediana de la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad por el método actuarial fue de 97 meses y 48 meses respectivamente, eso significa que la mitad o menos de los pacientes que murieron lo hicieron entre el mes 1 y el mes 97; y la mitad o menos de los pacientes que murieron o tuvieron un episodio de recaída lo hicieron entre el mes 1 y el 48.

En el grupo de receptores con donante idéntico la mediana de la supervivencia libre de enfermedad fue de 58 meses; mientras que en el grupo de receptores con donante

haploidéntico la mediana de la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad fue de 47 meses y 46 meses respectivamente (datos no mostrados).

4.1.1 Análisis Bivariado - Método de Kaplan Meier.

Con el fin de explorar la asociación entre las variables demográficas, clínicas e inmunológicas y los diferentes desenlaces, se aplicó el método de Kaplan Meier en receptores de TCHM con donante idéntico y receptores de TCMH con donante haploidéntico por separado.

4.1.1.1 Análisis Bivariado - Método de Kaplan Meier en receptores con donante idéntico.

En los receptores con donantes idénticos, aquellos con EICH aguda (**Figura 3A**), sin EICH crónica (**Figura 3B**) y con recaída (**Figura 3C**) se asocian estadísticamente con un menor tiempo de supervivencia global del receptor ($p < 0,05$), al igual que aquellos receptores trasplantados con donantes con el gen *KIR3DS1* ($p = 0,05$) (**Figura 3D**). Con respecto a la supervivencia libre de enfermedad, los receptores sin EICH crónica (**Figura 4A**) y aquellos trasplantados con donantes con el gen *KIR3DS1* (**Figura 4B**) tienen una menor supervivencia libre de enfermedad ($p < 0,05$). El análisis de la mortalidad no relacionada a recaída mostró que los receptores con EICH aguda (**Figura 5A**), sin EICH crónica (**Figura 5B**), los receptores trasplantados con donantes incompatibles para grupo sanguíneo (**Figura 5C**) y los receptores trasplantados con donantes con la presencia de los genes *KIR2DS1* (**Figura 5D**), *KIR2DS5* (**Figura 5E**) y *KIR3DS1* (**Figura 5F**) tienden a morir por causas diferentes a episodios de recaída ($p < 0,05$) (**Tabla 13**).

En relación al desarrollo de EICH aguda, los receptores trasplantados con donantes con presencia de los genes *KIR2DS1* (**Figura 6A**) o *KIR2DS5* (**Figura 6B**) y aquellos trasplantados con donantes con el haplotipo KIR B/x (**Figura 6C**) presentan menores incidencias ($p < 0,05$). Para el desarrollo de EICH crónica, los receptores trasplantados con donantes con presencia del gen *KIR2DL5* presentan una menor incidencia ($p = 0,022$) (**Figura 7**). Por último, ninguna variable tuvo una asociación con la recaída en este grupo de receptores (**Tabla 13**).

4.1.1.2 Análisis Bivariado - Método de Kaplan Meier en receptores con donante haploidéntico.

En los receptores con donantes haploidénticos, aquellos receptores entre 41 y 57 años (**Figura 8A**), receptores trasplantados con donantes mujeres (**Figura 8B**), receptores mujeres trasplantados con donantes hombres (**Figura 8C**), receptores con mielofibrosis (**Figura 8D**), receptores con el gen *KIR2DL5* (**Figura 8E**). y receptores trasplantados con donantes compatibles según el modelo gen – gen

(Figura 8F) presentaron una menor supervivencia global ($p < 0,05$). Estas mismas variables (Figura 9A – 9E), excepto las edades entre 41 y 57 años, se asociaron con una menor supervivencia libre de enfermedad ($p < 0,05$). Por otro lado, los receptores entre 41 y 57 años (Figura 10A), los receptores mujeres trasplantados con donantes hombres (Figura 10B), y aquellos con mielofibrosis (Figura 10C) tienden a morir por causas diferentes a episodios de recaída ($p < 0,05$) (Tabla 13).

Los receptores con haplotipo KIR AA (Figura 11A) y aquellos trasplantados con donantes incompatibles según el modelo gen – gen (Figura 11B) presentan menores incidencias de EICH aguda ($p < 0,05$). Para la EICH crónica, los receptores con leucemias crónicas (Figura 12A), receptores con ausencia de los genes *KIR2DS1* (Figura 12B), y receptores trasplantados con donantes con ausencia de los genes *KIR2DL5* (Figura 12C) y *KIR2DS1* (Figura 12D) presentan mayores incidencias de EICH crónica ($p < 0,05$). Para recaída no se observó asociación estadísticamente significativa con ninguna de las variables analizadas (Tabla 13).

4.1.2 Modelos de Riesgos Proporcionales de Cox.

Con el fin de determinar cuáles son las variables que explican la variabilidad de la supervivencia global, la supervivencia libre de enfermedad y la mortalidad no relacionada a recaída, se construyeron tres modelos de riesgos proporcionales de Cox para los receptores trasplantados con donantes idénticos y tres modelos para los receptores trasplantados con donantes haplo idénticos.

4.1.2.1 Modelos de Riesgos Proporcionales de Cox para receptores de TCMH con donante idéntico.

Dentro del grupo de receptores de TCMH con donantes idénticos, se identificó que los receptores trasplantados con donantes que tienen el gen *KIR3DS1* tienen 3,25 más de riesgo de mortalidad en comparación con los receptores trasplantados con donantes que no tienen este gen. Esta misma asociación fue observada para la supervivencia libre de enfermedad y para la mortalidad no asociada a recaída. (Tabla 14).

Adicionalmente, los receptores trasplantados con un donante incompatible para los genes KIR (según el modelo de compatibilidad gen – gen) podrían tener un 58% menos de riesgo de mortalidad y recaída en comparación con los receptores trasplantados con un donante compatible, a pesar de no observarse una significancia estadística (HR 0,42 (IC95% 0,16 - 1,07) $p=0,06$) (Tabla 14).

4.1.2.2 Modelos de Riesgos Proporcionales de Cox para receptores de TCMH con donante haploidéntico.

Dentro del grupo de receptores de TCMH con donantes haploidénticos se encontró que los receptores trasplantados con un donante incompatible para los genes KIR según el modelo de compatibilidad gen – gen, tienen un 77% menos de riesgo de mortalidad, y 77% menos riesgo de mortalidad y recaída en comparación con aquellos receptores trasplantados con donantes compatibles para los genes KIR (**Tabla 15**).

Igualmente, los receptores trasplantados con donantes hombres tienen un 66% menos de riesgo de mortalidad, 64% menos de riesgo de mortalidad y recaída, y un 73% menos de riesgo de mortalidad no relacionado a recaída en comparación con los receptores trasplantados con donantes mujeres (**Tabla 15**).

4.1.3 Modelos de Riesgos Competitivos.

Para evaluar los desenlaces EICH aguda, EICH crónica y recaída, se tuvieron en cuenta los riesgos competitivos existentes entre estos y en relación a la supervivencia.

4.1.3.1 Modelos de Riesgos Competitivos para receptores de TCMH con donante idéntico.

Dentro del grupo de receptores de TCMH con donantes idénticos se encontró que los receptores trasplantados con donantes que tienen los genes *KIR2DS1* y *KIR3DS1* tienen un 92% y 97% menos de riesgo de EICH aguda respectivamente, en comparación con los receptores trasplantados con donantes que no presentan estos dos genes (*KIR2DS1* sHR 0,08 (IC95% 0,01 - 0,83), p=0,034; *KIR3DS1* sHR 0,03 (0,003 - 0,28), p=0,002). Igualmente, los receptores negativos para CMV trasplantados con donantes negativos para CMV tienen 3,9 veces más de riesgo de EICH aguda que los receptores positivos para CMV trasplantados con donantes positivos o negativos para CMV (sHR 3,9 (IC95% 1,56 - 9,8), p=0,004). Para la EICH crónica no se encontró asociación con ninguna de las variables estudiadas (**Tabla 16**).

En relación al desenlace recaída, se encontró que los receptores trasplantados con donantes incompatibles según el modelo gen – gen presentan 78% menos riesgo de recaídas en comparación con los receptores trasplantados con donante compatibles según este modelo (sHR 0,22 (IC95% 0,05 - 0,92), p=0,04) (**Tabla 16**). De igual manera, los receptores trasplantados con donantes con la presencia del gen *KIR2DL2* tienen 68% menos riesgo de recaída que aquellos trasplantados con donantes sin este gen (sHR 0,32 (IC95% 0,11 - 0,94), p=0,04) (**Figura 13**).

4.1.3.2 Modelos de Riesgos Competitivos para receptores de TCMH con donante haploidéntico.

Dentro del grupo de receptores de TCMH con donantes haploidénticos se encontró que los receptores trasplantados con donantes incompatibles según el modelo gen – gen tienen un 73% menos de riesgo de EICH aguda en comparación con los receptores trasplantados con donantes compatibles (sHR 0,27 (IC95% 0,07 - 0,98), $p=0,05$) (**Tabla 17**).

Por otro lado, para la EICH crónica se evidenció que los receptores trasplantados con donantes con la presencia de los genes *KIR2DS1* y *KIR2DL5* tienen un 71% y 82% menos de riesgo de presentar este desenlace en comparación con aquellos receptores trasplantados con donantes sin estos genes (*KIR2DS1* sHR 0,29 (IC95% 0,11 - 0,77), $p=0,013$; *KIR2DL5* sHR 0,18 (IC95% 0,08 - 0,42), $p=0,0001$) (**Tabla 17**).

Por último, se encontró que los receptores con comorbilidades, y específicamente con obesidad tienen 2,11 veces más riesgo de recaída en comparación con aquellos receptores sin comorbilidades (sHR 2,11 (IC95% 1,26 - 3,54), $p=0,0001$) (**Tabla 17**).

DISCUSIÓN

En los últimos años se ha demostrado el efecto benéfico de la alorreactividad de las células NK en los diferentes desenlaces del TCMH. En el presente estudio se evaluaron las frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas de los receptores KIR en un grupo de donantes de CMHs no relacionados de nuestra ciudad, identificando variaciones génicas y genotípicas con patrones estructurales únicos. Con la caracterización de la diversidad genética de los receptores KIR, se establecieron los modelos de compatibilidad según estos receptores y se determinó su asociación con los diferentes desenlaces del TCMH. En este estudio no se encontraron asociaciones entre los modelos de compatibilidad ligando – ligando y ligando – receptor, pero si entre la alorreactividad de las células NK definida por el modelo de compatibilidad gen – gen y la recaída en pacientes de TCMH con donante idéntico; y la supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y EICH aguda en pacientes de TCMH con donante haploidéntico

1. Caracterización genética de los receptores KIR

La diversidad de los genes KIR entre diferentes poblaciones puede atribuirse a las variaciones en las frecuencias genotípicas y haplotípicas; donde existen un conjunto de genotipos y haplotipos que explican hasta el 90% de las variaciones observadas a nivel poblacional. Sin embargo, existen numerosos genotipos y haplotipos con diferentes grados de variación; y poblaciones caracterizadas por la ausencia virtual de los genotipos más comunes, lo que denota el alto grado de plasticidad y variación en el contenido génico del clúster de genes de KIR (79).

1.1 Frecuencias génicas

En relación a las frecuencias génicas de cada uno de los genes evaluados, en este trabajo se encontró que los genes *KIR3DL3*, *KIR3DP1*, *KIR2DL4* y *KIR3DL2* estuvieron presentes en todos los individuos analizados, lo cual coincide con los reportes a nivel mundial, donde se ha descrito la presencia virtual de estos cuatro genes en todos los genotipos de KIR (80). Por otro lado, las frecuencias de los genes *KIR2DS2*, *KIR3DS1*, *KIR2DL5*, *KIR2DS5* y *KIR2DS1* en este grupo de donantes coinciden con las frecuencias más comunes a en todo el mundo (80) (**Tabla 6**).

Sin embargo, los genes *KIR2DL2*, *KIR2DL3*, *KIR2DL1*, *KIR3DL1* y *KIR2DS4* de este grupo de donantes, presentaron frecuencias más bajas cuando se comparan con las frecuencias más comunes en el mundo, aunque equiparables a las observadas en poblaciones latinoamericanas (80). Para el gen *KIR2DL2*, la frecuencia fue de 32,2%, la cual coincide con las frecuencias reportadas en 6 poblaciones de Brasil, 5

poblaciones de México, y una población de Argentina y Chile (frecuencias entre 19% y 39%) (81-87). Para los genes *KIR2DL3* y *KIR2DL1* las frecuencias en el presente estudio fueron de 66,6% y 77,7% respectivamente, las cuales coinciden con las frecuencias reportadas en una población venezolana (87). Similarmente, 10 de 263 poblaciones a escala internacional han reportado frecuencias entre el 50 y 69% para *KIR2DL3*; y 5 de 261 poblaciones han reportado frecuencias entre 60 y 79% para *KIR2DL1* (80). Para el gen *KIR3DL1* la frecuencia fue de 75,1%, la cual coincide con las frecuencias reportadas en 19 poblaciones de América Latina (82,84,85,88,89). Por último, para el gen *KIR2DS4* la frecuencia fue de 73,9% (18 de 225 poblaciones han reportado frecuencias entre 60 y 79%), la cual coincide con las frecuencias reportadas por 3 poblaciones de Brasil y una población de Venezuela (82,88,89) (**Tabla 6**).

En el estudio realizado por Hollenbach y colaboradores se evaluaron los patrones de variación del clúster de genes KIR en muestras de poblaciones humanas como parte del Proyecto de Diversidad del Genoma Humano – Centro de Estudios de Polimorfismo Humano (HGDP – CEPH, por sus siglas en inglés). En este estudio se evaluaron 52 poblaciones de las principales regiones (África, Medio Oriente, Asia central, Asia oriental, Europa, América y Oceanía). Dentro de las poblaciones americanas analizadas, una corresponde a una población colombiana (13 individuos de Puerto Colombia, Guainía) (79). En este estudio las poblaciones se agruparon según patrones específicos de variación genotípica. Tres poblaciones africanas (San, Biaka y los pigmeos Mbuti), dos poblaciones de Oceanía (Papúes y Melanesianos) y tres poblaciones americanas (Caritiana, Pima y la población colombiana) se agruparon según las frecuencias de los genes del haplotipo B/x (79).

En esta población de estudio, el gen *KIR2DS3* se encontró en el 10,5% de los individuos, y los genes *KIR2DS1* y *KIR2DS5* en el 36,5% y 34% respectivamente. Estas frecuencias son diferentes a las descritas en las tres poblaciones africanas y las tres poblaciones americanas del estudio de Hollenbach. De manera particular, en la población de Guainía los genes *KIR2DS1* y *KIR2DS5* estuvieron presentes en el 50% de los individuos, mientras que el gen *KIR2DS3* estuvo completamente ausente. Estas diferencias pueden ser a causa del aislamiento genético de las poblaciones africanas, oceánicas y americanas evaluadas por este grupo, además del número limitado de individuos estudiados (79).

Otra posible explicación de las diferencias con el presente estudio es la organización estructural de los genes *KIR2DS5* y *KIR2DS3*. Ambos genes se encuentran ubicados en el mismo *locus*, el cual se encuentra duplicado en los motivos centroméricos y teloméricos de los haplotipos B/x. Mundialmente en los motivos centroméricos el gen

KIR2DS3 se presenta con mayor frecuencia que el gen *KIR2DS5*, mientras que en las poblaciones americanas analizadas por Hollenbach se evidenció una fijación del alelo *KIR2DS5*, lo que según este grupo es una evidencia de una aparente selección negativa del gen *KIR2DS3* en estas poblaciones (79). Sin embargo, estos resultados demostraron la presencia del gen *KIR2DS3*, lo que podría explicarse por procesos de mestizaje en esta población. Estos datos están en concordancia con lo observado en el estudio realizado por Bonilla sobre genotipos de receptores KIR en individuos de la región andina y pacífica, donde las frecuencias de los genes *KIR2DS3*, *KIR2DS1* y *KIR2DS5* son similares a las observadas por nuestro grupo (69).

En conjunto, los resultados de las frecuencias génicas de los receptores KIR evidencian una organización genética en nuestra población donde se ven favorecidas las isoformas activadoras de estos receptores en comparación con las isoformas inhibitoras. Las bajas frecuencias de los genes *KIR2DL2*, *KIR2DL3*, *KIR2DL1*, *KIR3DL1* y *KIR2DS4* están en concordancia con las bajas frecuencias del haplotipo A en esta población (13% versus 87% del haplotipo B en el grupo de donantes). Sin embargo, estos perfiles de expresión son similares a poblaciones de América Latina, donde existe un predominio de los haplotipos B/x (81 - 89), como se discutirá más adelante.

1.2 Frecuencias genotípicas

En esta población de estudio de referencia se encontraron 37 genotipos; de estos, 30 (80%) son explicados por los genotipos más comunes descritos a nivel poblacional. Al comparar nuestras frecuencias genotípicas, con las reportadas en la base de datos "Allele Frequency Net Database" del Royal Liverpool University Hospital (donde se encuentran consignados datos de 661 genotipos identificados a partir de 24950 individuos de 191 poblaciones diferentes) (80); encontramos que los genotipos con mayor frecuencia de nuestra población, se encuentran entre los 20 genotipos más frecuentes de esta base de datos, donde el genotipo 3 corresponde al genotipo más común, el cual a su vez corresponde a individuos con haplotipos AA. El genotipo 3 se caracteriza por la ausencia de genes KIR activadores (*KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS5* y *KIR3DS1*), además de la ausencia de los genes *KIR2DL2* y *KIR2DL5* (**Tabla 6**).

Interesantemente, en este estudio se encontraron 3 genotipos que no han sido descritos previamente en la literatura (genotipo 2, 6 y 23) (**Tabla 6**). Dentro de los nuevos genotipos identificados en la actual población de estudio, el genotipo 2 tiene una similitud parcial con el genotipo descrito en un individuo de una población de Suecia (78), pero este grupo de investigación no confirmó la presencia de los genes *KIR2DP1* y *KIR3DP1*. De igual manera, el genotipo 23 tiene una coincidencia parcial

con el genotipo descrito en un individuo de una población de las Islas Cook (90), con la diferencia de que en el genotipo 23 el gen *KIR2DP1* está ausente. Por último, el patrón de composición génica del genotipo 6 no presenta similitudes con ninguno de los genotipos descritos en la literatura. Adicionalmente, el genotipo 31 solo ha sido descrito en un individuo de una población de Uganda (77). Estos resultados soportan las observaciones realizadas en poblaciones latinoamericanas, donde la diversidad genotípica no es elevada, pero si existen patrones únicos en la región.

Es importante destacar el hallazgo de estos nuevos genotipos, ya que los estudios sobre la variabilidad genética de los receptores KIR no solo son valiosos para los análisis de genética poblacional, sino también para los estudios sobre asociaciones de genes involucrados en diferentes enfermedades, además de los estudios clínicos sobre compatibilidad en inmunología de trasplantes. Los diferentes patrones de estructuras génicas encontrados a nivel poblacional pueden estar relacionados con diferentes desenlaces, por lo que conocer la organización genética de estos receptores puede ayudar en la selección de donantes óptimos para la consecución de trasplantes exitosos.

1.3 Frecuencias haplotípicas

En relación a las frecuencias haplotípicas, este estudio constituye el primer acercamiento para definir los haplotipos de receptores KIR presentes en población colombiana. En Colombia solo se han realizado estudios sobre frecuencias génicas y genotípicas, pero no una descripción de las frecuencias haplotípicas (69,79). Mediante el algoritmo HAPLO-IHP se realizó la inferencia de los haplotipos presentes en esta población a partir de los resultados de genotipificación. Para estos análisis se identificaron haplotipos de referencia descritos en la literatura entre los principales grupos étnicos (72,73). Mediante este algoritmo, los haplotipos de referencia seleccionados explicaron el 97% de la variación haplotípica en el grupo de donantes, mientras que fue necesario la construcción de 6 haplotipos para explicar el 3% de la variación restante (estos haplotipos deben ser confirmados mediante análisis de segregación y secuenciación).

En esta población, las frecuencias del haplotipo B/x fueron altas (87% en el grupo de donantes), lo cual coincide con los resultados del estudio de Hollenbach, donde ocho poblaciones de África, Oceanía y América se agruparon según las frecuencias altas del haplotipo B/x. Esto contrasta con los datos de las poblaciones de Asia central, las cuales se caracterizan por las bajas frecuencias del haplotipo B/x (79). Análisis comparativos sobre haplotipos KIR realizados por el grupo de Rajalingam encontraron una asociación entre patrones de migración prehistórica humana y la distribución de los haplotipos KIR en diferentes poblaciones humanas. Es así como

este grupo describe tres grupos principales: un grupo de poblaciones con dominancia del haplotipo KIR AA (poblaciones asiáticas), un segundo grupo de poblaciones con dominancia del haplotipo KIR B/x (poblaciones nativo americanas y australianas) y un tercer grupo de poblaciones con la presencia en igual proporción de ambos haplotipos (poblaciones europeas) (91). La principal conclusión de estos estudios es que la distribución actual de los haplotipos de receptores KIR podría explicarse a partir de los patrones de migración de poblaciones prehistóricas. Sin embargo, son necesarios más estudios sobre procesos de selección natural que pueden estar involucrados en el enriquecimiento de los haplotipos B/x en nuestra población.

Los presentes resultados son una evidencia de la variabilidad génica, genotípica y haplotípica. Si bien se ha descrito que la diversidad genética de los receptores KIR es limitada en poblaciones latinoamericanas en comparación con otras poblaciones a nivel mundial, en este trabajo se identificaron variaciones génicas y genotípicas con patrones estructurales únicos. La variabilidad genética se puede ver reflejada en respuestas inmunes aumentadas. En el caso particular de los receptores KIR, y como se discutirá más adelante, esta variabilidad se manifiesta en el aumento de la alorreactividad de las células NK y por lo tanto mejores desenlaces en el TCMH.

Vale la pena destacar que mediante estos análisis no se puede obtener información sobre el número de copias génicas que pueden estar presentes en cada uno de los haplotipos inferidos, ni datos sobre los alelos presentes en esta población. Sería importante obtener datos sobre el número de copias y sobre polimorfismos de los receptores KIR para complementar la información sobre la genética de este grupo de receptores.

No obstante, esta caracterización genética de los receptores KIR realizada en esta población es importante para entender el comportamiento de las células NK en términos de la población celular global. Debido a la diversidad genética de los receptores KIR y su expresión estocástica, además de la expresión diferencial de otros receptores en células NK, se han detectado más de 30000 fenotipos diferentes de dichas células en circulación de cada individuo (92). Por esta razón, el funcionamiento de las células NK ha intentado predecirse basado principalmente en su genética y mecanismos epigenéticos.

Esta diversidad sugiere que algunas células NK con fenotipos particulares, pueden ser educadas en un individuo con mayor eficacia para detectar cierto tipo de infecciones o malignidades basados en los niveles de expresión de receptores KIR en relación con los patrones de expresión de sus ligandos. De igual manera, estas observaciones pueden ser extrapoladas a lo observado en la alorreactividad de las

células NK en los TCMH, donde ciertos fenotipos podrían relacionarse con diferentes desenlaces, según la expresión de ciertas combinaciones de receptores inhibidores y activadores.

Sin embargo, y debido a la complejidad en el estudio de fenotipos individuales, en la actualidad se han hecho esfuerzos para entender la funcionalidad de las células NK mediante estudios genéticos. Por este motivo es importante conocer las frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas de los receptores KIR, con el fin de entender los procesos de educación de las células NK, predecir su alorreactividad, y su relación con los diferentes desenlaces en el contexto del TCMH.

2. Compatibilidad según los receptores KIR y su asociación con los desenlaces del TCMH

El proceso de selección de la pareja receptor - donante es un tema relevante en el TCMH para la consecución de trasplantes exitosos. En el TCMH existen diferentes desenlaces que ponen en riesgo el éxito del trasplante. Las respuestas inmunológicas en el TCMH pueden variar de acuerdo al tipo de donante, y son moduladas por factores clínicos y genéticos de los receptores y donantes, así como por la composición celular de los injertos (93). Dentro de estas respuestas, las células NK hacen parte de los principales mediadores en el control de las leucemias. Por esta razón, se ha sugerido el estudio de receptores de células NK como un criterio adicional en la selección de donantes.

Como se expuso antes, para la inferencia de la alorreactividad de las células NK se han propuesto tres modelos de compatibilidad a partir de análisis genéticos del HLA clase I y receptores KIR. De acuerdo al modelo ligando – ligando, las incompatibilidades entre donantes y receptores conducen a un mayor efecto ICT, lo que reduce la incidencia de recaída. El modelo ligando – receptor es una extensión del anterior modelo, donde se confirma la presencia de los receptores KIR en el donante para explicar el efecto ICT. Por último, en el modelo gen-gen se plantea que donantes con un mayor número de genes KIR activadores (haplotipo B/x) presentan mayor alorreactividad de las células NK, lo que conduce a mayor supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad, además de menor incidencia de EICH y recaídas.

La exploración de los tres modelos de compatibilidad expuestos en las 161 parejas de receptores y donantes evidenció una asociación con los diferentes desenlaces del TCMH, las cuales dependen del tipo de donante (idéntico o haploidéntico).

2.1 Receptores de TCMH con donantes HLA idénticos.

En el caso de los trasplantes con donantes HLA idénticos, mediante análisis de supervivencia se encontró que la incompatibilidad en receptores KIR definida por el modelo de compatibilidad gen – gen y la presencia del gen *KIR2DL2* en el donante se asociaron con una disminución en las recaídas. En relación a los demás desenlaces, las incompatibilidades génicas solo se asociaron con una mayor supervivencia libre de enfermedad. Por su parte, el gen *KIR2DS1* presente en el donante se asoció con la disminución de la EICH aguda, al igual que el gen *KIR3DS1*, sin embargo, este último gen también se asoció con una menor supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad y una mayor mortalidad no relacionada a recaída.

Estos resultados sobre la asociación del modelo de compatibilidad gen – gen con menores recaídas en receptores de TCMH con donante idéntico (particularmente en aquellos trasplantados con donantes con haplotipos B/x), concuerdan con resultados de varios grupos a escala internacional. Cooley y colaboradores estudiaron la importancia del haplotipo B del donante en la reducción del riesgo de recaída (58). Similarmente, los grupos de Bachanova y MacQueen observaron el efecto benéfico de los haplotipos B (62,63).

Adicionalmente, en el estudio de Cooley se exploró la influencia de genes individuales en receptores de TCMH con donantes no relacionados (con compatibilidad completa y parcial), encontrando efectos positivos de los genes *KIR2DS2* y *KIR2DL2* en relación al riesgo de recaída (67). Estos genes presentan un desequilibrio de ligamiento fuerte, y su presencia sugiere un motivo de genes centroméricos del haplotipo B. De manera similar, Impola y su grupo hallaron que los receptores cuyos donantes tenían los genes *KIR2DL2* o *KIR2DS2* presentaban una supervivencia libre de enfermedad mayor y menores tasas de recaída (61). Igualmente, el grupo de Solomon demostró la importancia del gen *KIR2DS2* dentro del haplotipo B/x del donante en el efecto benéfico sobre la supervivencia global, la supervivencia libre de enfermedad y la recaída (94). Por su parte, el grupo de Babor demostró que la presencia de motivos de genes centroméricos del haplotipo B se asociaban con una reducción en el riesgo de recaída, mientras que los motivos de genes teloméricos del mismo haplotipo no tenían ningún efecto en este desenlace (95). Los resultados del presente estudio estuvieron en concordancia con estas observaciones, ya que se observó que la presencia del gen *KIR2DL2* se asocia con una disminución en la recaída de los receptores.

Con respecto a la asociación entre el gen *KIR2DS1* presente en el donante y la EICH aguda, Gagne y colaboradores encontraron en su estudio que los genes *KIR2DL5* o

KIR2DS1 se asociaron con una mayor incidencia de EICH aguda (59). Estos resultados también fueron observados por el grupo de Giebel y colaboradores, quienes analizaron el genotipo KIR en 100 receptores y sus donantes. Cuando los receptores eran negativos y los donantes positivos para los genes *KIR2DS1*, *KIR2DS3* y *KIR2DS5*, la incidencia de EICH aguda, EICH crónica y recaída se vio aumentada respectivamente (96). Sin embargo, los resultados de este estudio no concuerdan con esta asociación negativa del gen *KIR2DS1*, ya que los receptores trasplantados con donantes con la presencia de este gen, presentaron una menor incidencia de EICH aguda. Resultados similares a los nuestros fueron obtenidos por el grupo de Mancusi (53); sin embargo, la asociación evidenciada por este grupo entre los genes *KIR2DS1* y/o *KIR3DS1* con la reducción en la incidencia de EICH y mejor supervivencia libre de enfermedad fue observada en receptores de TCMH con donantes haploidénticos.

2.2 Receptores de TCMH con donantes HLA haploidénticos.

Mediante los análisis de supervivencia se observó una asociación entre la incompatibilidad gen – gen de los receptores KIR y una mayor supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad; y una asociación con menores incidencias de EICH aguda. De igual manera, la presencia de los genes *KIR2DS1* y *KIR2DL5* en el donante se asoció con una menor incidencia de EICH crónica. En cuanto a la recaída, la única variable asociada con este desenlace fue la presencia de comorbilidades en el receptor.

La asociación de los genotipos de KIR con los diferentes desenlaces del TCMH con donantes haploidénticos fue demostrado por el grupo de Symons, quienes encontraron que receptores con incompatibilidades génicas presentaban una mayor supervivencia global y una mayor supervivencia libre de enfermedad. Igualmente, demostraron que las incompatibilidades bajo el modelo de compatibilidad gen – gen, en las que los receptores con haplotipo A eran trasplantados con donantes con haplotipo B/x presentaban mejores desenlaces (64). Otros estudios han demostrado la asociación entre este modelo de compatibilidad con incidencias reducidas de recaída (65, 66). Sin embargo, los resultados derivados de este trabajo no revelaron una asociación entre este modelo y la incidencia de recaída.

Igualmente, se han encontrado asociaciones entre donantes con haplotipos B/x y un menor riesgo de EICH. Torío y su grupo evaluaron los genotipos KIR de 30 receptores de TCMH con donantes haploidénticos (sin eliminación previa de células T) y su asociación con la supervivencia libre de EICH, encontrando una asociación entre los haplotipos B/x del donante con menores incidencias de EICH crónica (97). Los actuales resultados evidenciaron la asociación existente entre las

incompatibilidades según el modelo gen – gen con la disminución de la incidencia de EICH aguda.

Mediante los análisis de riesgos competitivos se encontró una asociación entre los genes *KIR2DS1* y *KIR2DL5* con una menor incidencia de EICH crónica. Similar a los resultados reportados aquí, el grupo de Mancusi demostró que la presencia del gen *KIR2DS1* se asociaba con menor riesgo de mortalidad, reducción en la incidencia de EICH, menor tasa de infecciones y mejor supervivencia libre de enfermedad (53). La función del receptor *KIR2DS1* fue demostrada por este grupo mediante un modelo in vitro, usando células NK humanas. Aquellas células que expresaron este receptor y se unían a moléculas con el epítipo C2 producían citocinas proinflamatorias por parte de las células NK, proceso que puede explicar su asociación con mejores desenlaces. En cambio, la asociación del gen *KIR2DL5* con desenlaces del TCMH solo ha sido demostrado en la reducción de las infecciones por CMV (98).

2.3 Fortalezas y limitaciones.

Los diferentes estudios realizados sobre la compatibilidad entre receptores KIR basados en la genotipificación del HLA y/o KIR y su influencia en los diferentes desenlaces del TCMH, ha llevado a conclusiones diversas sobre la importancia de los receptores KIR en el TCMH. Actualmente no existe un consenso sobre cuál(es) modelo(s) de compatibilidad tiene(n) una verdadera asociación con el TCMH. Sin embargo, una serie de estudios han reportado el efecto benéfico de los haplotipos B/x, independiente de los protocolos de TCMH implementados. El presente estudio, a diferencia de los realizados anteriormente, fue realizado evaluando los tres modelos simultáneamente, y en una cohorte de pacientes con donantes idénticos y haplo idénticos, ya que los estudios realizados hasta el momento son realizados evaluando un modelo en particular, en pacientes con un tipo de donante específico.

Sin embargo, existen ciertas limitaciones en este estudio. Primero, la cohorte evaluada es heterogénea en relación a las enfermedades hematológicas incluidas. En la literatura se ha demostrado la asociación de los modelos de compatibilidad con enfermedades hematológicas específicas. En un algoritmo de selección de donantes propuesto por el grupo de Houdová, la utilización del modelo de compatibilidad gen – gen ha sido propuesto para la selección de donantes en pacientes con LMA y LNH en el contexto del TCMH con donante idéntico; mientras que se propone la utilización de los modelos de ligando – ligando o ligando – receptor para la selección de donantes en pacientes con LMA, SMD, LMC y LLA, en el contexto del TCMH con donantes con compatibilidad parcial (68). Segundo, la cohorte de pacientes evaluados corresponde a una única institución trasplantadora de la ciudad de Medellín. Adicionalmente, la selección de los pacientes fue realizada a conveniencia,

incluyendo al total de los pacientes estudiados por el Laboratorio de Inmunología de Trasplantes de la Universidad de Antioquia que cumplieran los criterios de selección. Esta limitación en relación al número de individuos estudiados, podría explicar porque el modelo de compatibilidad gen-gen no tuvo una asociación estadísticamente significativa con la supervivencia libre de enfermedad (**Tabla 14**). Por último, las asociaciones descritas fueron realizadas solo a través de análisis genéticos, y los mecanismos funcionales de los efectos benéficos de la alorreactividad de las células NK según los modelos de compatibilidad no han sido completamente dilucidados.

2.4 Consideraciones finales.

Si bien en este estudio no se encontraron asociaciones entre los modelos de compatibilidad ligando – ligando y ligando – receptor, la importancia de la alorreactividad mediada por KIR en células NK del donante en los desenlaces del TCMH fue descrita inicialmente a partir de estos modelos. El grupo de la Universidad de Perugia en el contexto del trasplante con donante haploidéntico, con eliminación de células T, altas dosis de células hematopoyéticas y sin inmunosupresión postrasplante demostró la importancia de la alorreactividad de las células NK. En este contexto, los pacientes con LMA e incompatibilidad de ligando - ligando, presentaban menores tasas de recaída y alta supervivencia (45).

De igual manera, resultados obtenidos por otros grupos de investigación indican que células NK licenciadas pueden mediar las respuestas ICT en un microambiente con incompatibilidades de ligandos de KIR y las células NK no licenciadas median estas respuestas cuando existe una pérdida de ligandos en el receptor (durante procesos infecciosos o de transformación tumoral) (99).

A raíz de las presentes observaciones y resultados obtenidos por otros grupos, se podría hipotetizar que dentro de los mecanismos que regulan la alorreactividad de las células NK, los receptores KIR activadores juegan un papel preponderante, sobre todo en el control de las células leucémicas y por lo tanto en la disminución del riesgo de recaída. No obstante, los estudios de compatibilidad según los modelos de compatibilidad ligando - ligando y ligando – receptor se basan principalmente en los KIR inhibidores y sus respectivos ligandos, donde los receptores activadores no tienen un papel preponderante, y tal vez sea esta la razón (además de las diferencias en los protocolos de trasplante) por la cual existen resultados contradictorios cuando se evalúan estos dos modelos en diferentes cohortes de pacientes de TCMH.

La función de las células NK está regulada por un balance entre las señales de los receptores inhibidores y activadores. Los estudios iniciales se enfocaron en los procesos de alorreactividad de células NK definidos como la presencia de un receptor

KIR inhibidor y la ausencia de su respectivo ligando, lo que genera un balance positivo de las señales de los receptores activadores. Sin embargo, en los casos donde tanto los receptores KIR inhibidores y sus respectivos ligandos están presentes, la alorreactividad de las células NK puede presentarse si hay un aumento en los ligandos de los receptores KIR activadores. Es este último mecanismo el que podría explicar la importancia de los haplotipos KIR B/x en el donante para la eliminación de células tumorales, y por lo tanto su importancia para la reducción de recaídas en los receptores de TCMH.

Estos resultados reafirman la importancia de los genotipos de los receptores KIR en la predicción de las funciones de las células NK, y la importancia de su implementación en los protocolos de estudio inmunológico pretrasplante, junto con la genotipificación del HLA. Si bien en la actualidad existen resultados contrastantes, debido principalmente a diferencias entre las cohortes de pacientes y en los protocolos de trasplante de cada centro (fuente de CMH, régimen condicionante, grado de eliminación de células T e inmunosupresión postrasplante), las cuales pueden afectar el desarrollo, educación y función de las células NK, se ha observado que el estudio bajo el modelo de compatibilidad gen –gen trasciende estas diferencias, demostrando su asociación en la mejoría de los desenlaces del TCMH.

Varias instituciones han establecido algoritmos locales para la selección de donantes, donde una de las variables para establecer compatibilidad entre receptores y donantes es la alorreactividad de las células NK inferida mediante la genotipificación de los receptores KIR o del HLA. Sin embargo, la definición y los modelos de alorreactividad usados por estos centros no están estandarizados y solo son aplicables para cada centro, lo cual denota la necesidad de estudios prospectivos de la selección de donantes basados en la inmunogenética de KIR-HLA.

En Colombia, este estudio constituye el primer acercamiento sobre la importancia de la alorreactividad de células NK para la selección de donantes idénticos o haploidénticos. Dentro de los modelos evaluados, el modelo de compatibilidad gen – gen fue el que se asoció con desenlaces positivos del TCMH. Por esta razón, se propone la genotipificación de los receptores KIR como una variable complementaria en el proceso de selección de la pareja receptor - donante en nuestro país, con la finalidad de mejorar la evolución y los desenlaces del TCMH y por lo tanto la calidad de vida de los pacientes.

En conclusión, destacamos la importancia de la caracterización genética de los receptores KIR en las diferentes poblaciones y los estudios de compatibilidad según los receptores KIR, ya que, el conocimiento de los patrones genéticos existentes en

la población puede mejorar los procesos de selección de donantes en el contexto del TCMH, con el fin de predecir la alorreactividad de las células NK y las reacciones inmunológicas y de esta manera favorecer la eliminación de células malignas y células involucradas en la EICH y rechazo, evitando la instauración de desenlaces negativos. Igualmente, la identificación de donantes óptimos en base a la genotipificación de los receptores KIR puede ser un paso importante para el diseño de intervenciones basadas en células NK y el desarrollo de inmunoterapias para este tipo de enfermedades hematológicas.

PERSPECTIVAS

En total se realizó la genotipificación de receptores KIR en 322 individuos. Se espera aumentar el número de personas evaluadas, con la finalidad de realizar un mejor acercamiento de las frecuencias génicas, genotípicas y haplotípicas en nuestra población.

Dentro de las variables utilizadas en los modelos de riesgos proporcionales de Cox y los modelos de riesgos competitivos, se espera poder incluir otras variables clínicas, como lo es el efecto del régimen condicionante (régimen de intensidad reducida, mieloablativo o no mieloablativo). Adicionalmente, y a raíz de la asociación existente entre el modelo de compatibilidad gen – gen con los diferentes desenlaces, proponemos evaluar otras variables genéticas de los receptores KIR, como lo es la presencia de motivos centroméricos y/o teloméricos de cada uno de los haplotipos, así como la asociación de las diferentes variables del gen *KIR2DS4*.

A raíz de los hallazgos de nuestro estudio, en este momento se está estructurando una propuesta para la realización de una prueba piloto donde se realizaría un estudio prospectivo para realizar la genotipificación de los receptores KIR y el modelo de compatibilidad gen-gen como un estudio adicional en el proceso de selección de donantes. De esta manera se espera evaluar el impacto de la implementación de esta prueba en el TCMH.

Explorar la posibilidad de realizar un estudio multicéntrico en los centros trasplantadores de la ciudad y/o el país.

FIGURAS, TABLAS Y LEYENDAS

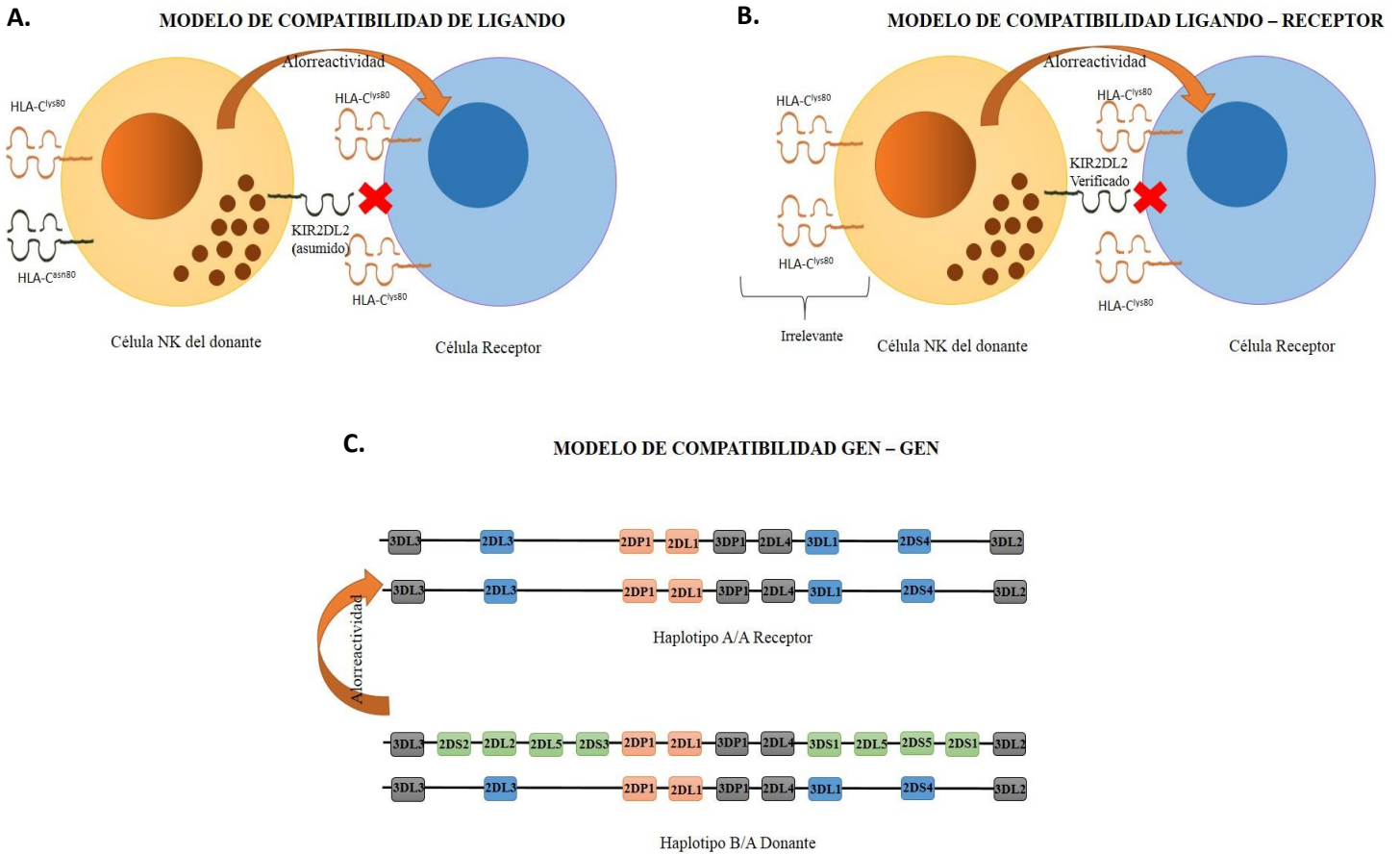
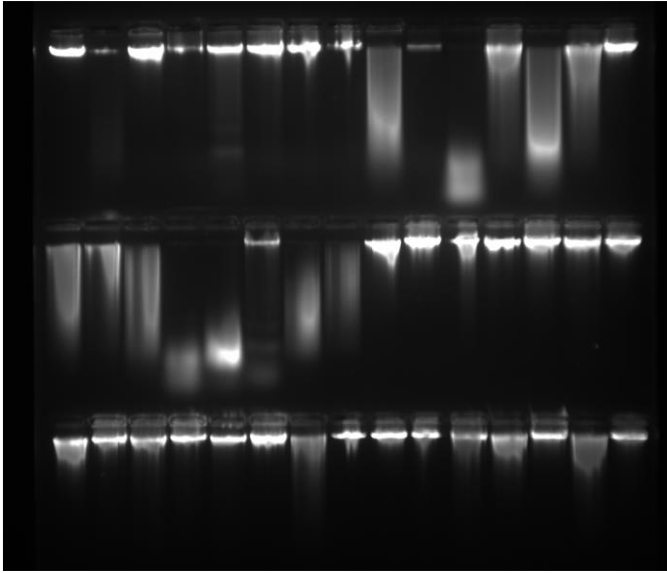
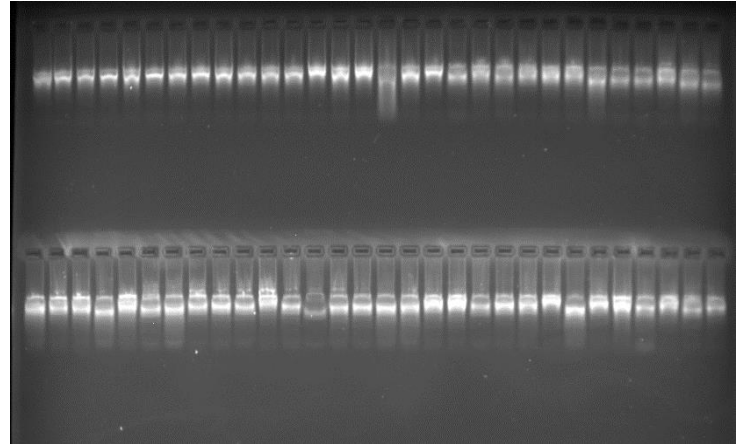
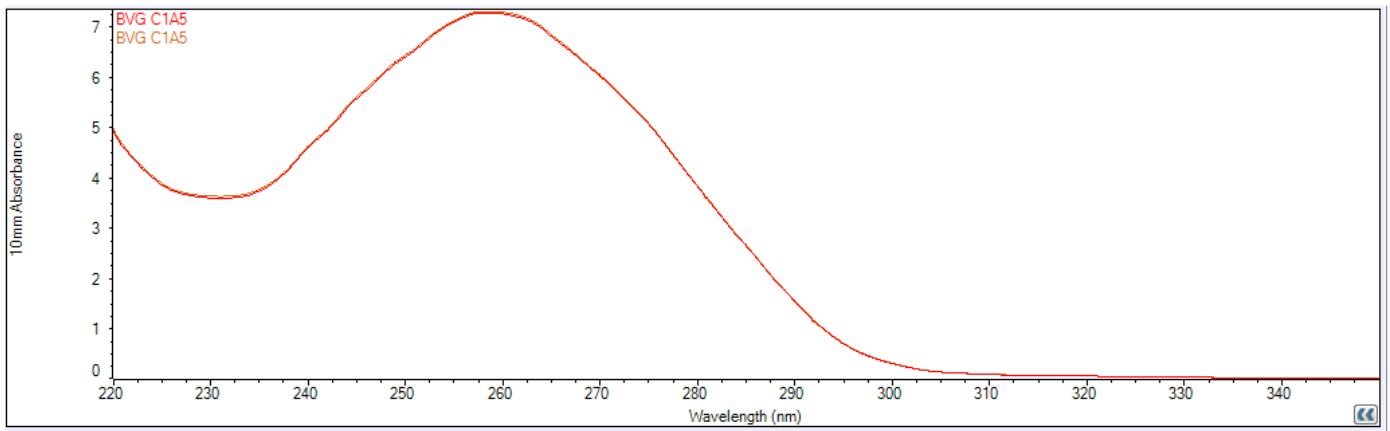


Figura 1. Modelos de alorreactividad de células NK según los modelos de compatibilidad.

A. El modelo de compatibilidad de ligando predice la alorreactividad de las células NK del donante contras las células del receptor, cuando estas no presentan el ligando para los receptores tipo KIR. Como ejemplo, se ilustra que una célula NK del donante que expresa KIR2DL2 es “educada” o “licenciada” por células del donante que expresan el epítipo C1, por lo tanto, las células NK son tolerantes hacia este epítipo. Si las células del receptor expresan sólo el epítipo C2, se esperaría que las células NK sean alorreactivas y activarán sus mecanismos efectoros. Este modelo evalúa la compatibilidad entre ligandos de receptores KIR inhibidores, los cuales son inferidos a partir de la compatibilidad entre HLA clase I. **B.** El modelo de compatibilidad ligando – receptor predice la alorreactividad de las células NK del donante contra las células del receptor, cuando estas no presentan un ligando para los receptores tipo KIR, como en el modelo anterior. Sin embargo, en este caso no se infiere el receptor KIR inhibitorio de las células del donante, sino que es definido mediante genotipificación o fenotipificación. **C.** El modelo de compatibilidad gen – gen de receptores KIR predice la

alorreactividad de las células NK a partir de las incompatibilidades entre los genotipos de los receptores tipo KIR, para lo cual es necesario realizar la genotipificación tanto en el donante como en el receptor. *Modificado de Symons HJ, et al. Biol Blood Marrow Transplant. 2010 Apr;16(4):533-42.*

A.**C.****B.**

| # | Sample ID | User name | Nucleic Acid | Unit | A260 (Abs) | A280 (Abs) | 260/280 | 260/230 | Sample T |
|----|-----------|---------------|--------------|-------|------------|------------|---------|---------|----------|
| 18 | BVG C1A5 | Administrador | 363.1 | µg/ml | 7.263 | 3.836 | 1.89 | 2.02 | DNA |
| 19 | BVG C1A5 | Administrador | 364.7 | µg/ml | 7.294 | 3.859 | 1.89 | 2.01 | DNA |

Figura 2. Ejemplo representativo de la verificación de la integridad y cuantificación del ADN

A. Electroforesis en gel de agarosa al 2% en presencia de Gel Red para la verificación de la integridad del ADN. En la imagen se ejemplifican los resultados de la electroforesis de ADN de un grupo de pacientes receptores de TCMH. Las muestras que presentaban una única banda en el gel de electroforesis, fueron seleccionadas para la genotipificación HLA-C (cuando era necesario) y genes KIR. **B.** Cuantificación del ADN mediante el uso del Nanodrop. En la figura se muestra la concentración del ADN de un receptor, al igual que los valores de absorbancia y los índices A260/A280 y A260/230. **C.** Electroforesis en gel de agarosa al 2% en presencia de Gel Red para la verificación de la amplificación del alelo HLA-C.

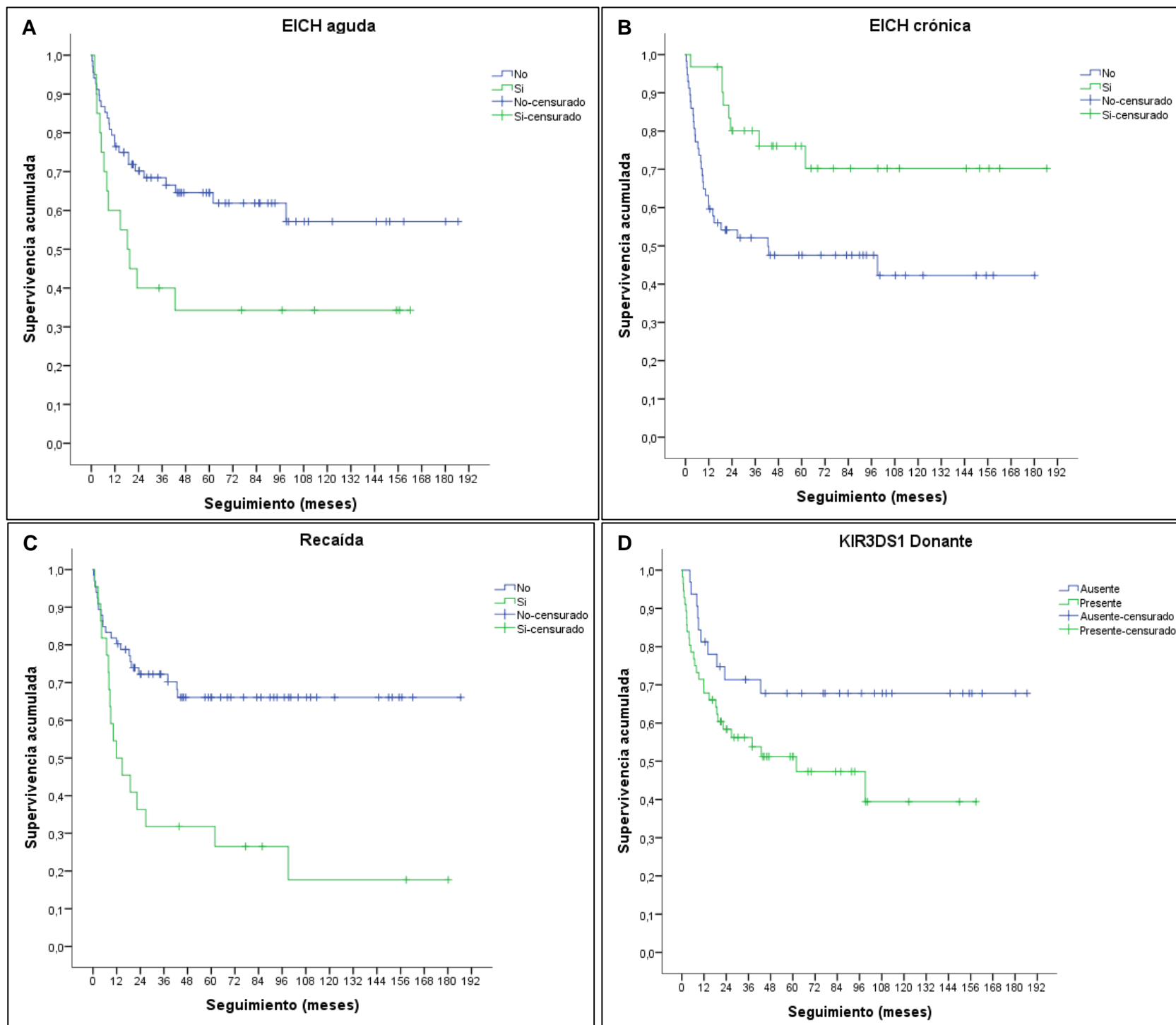


Figura 3. Supervivencia global de los receptores de TCMH con donante idéntico de acuerdo a las variables EICH aguda, EICH crónica, recaída y KIR3DS1 del donante.

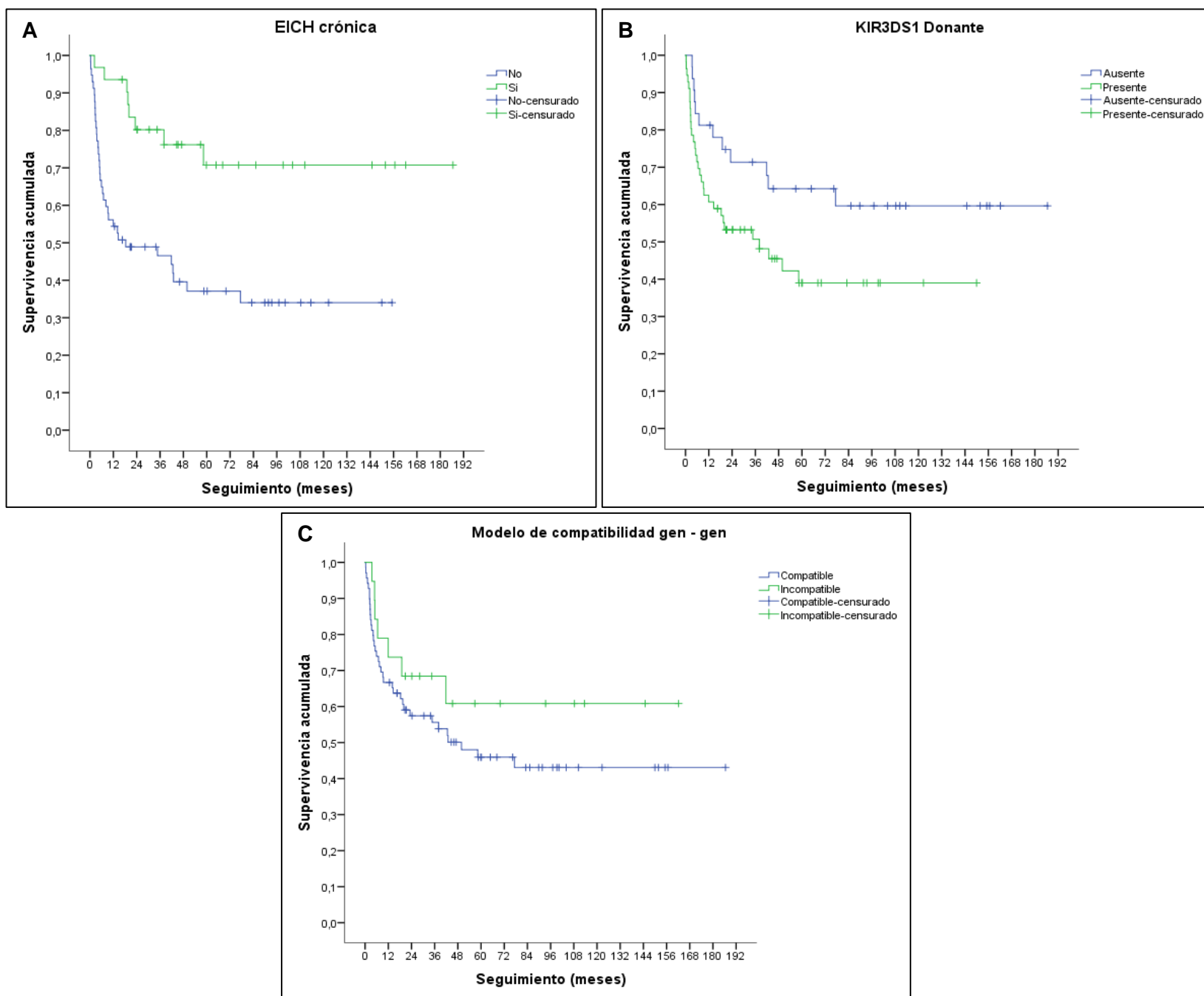
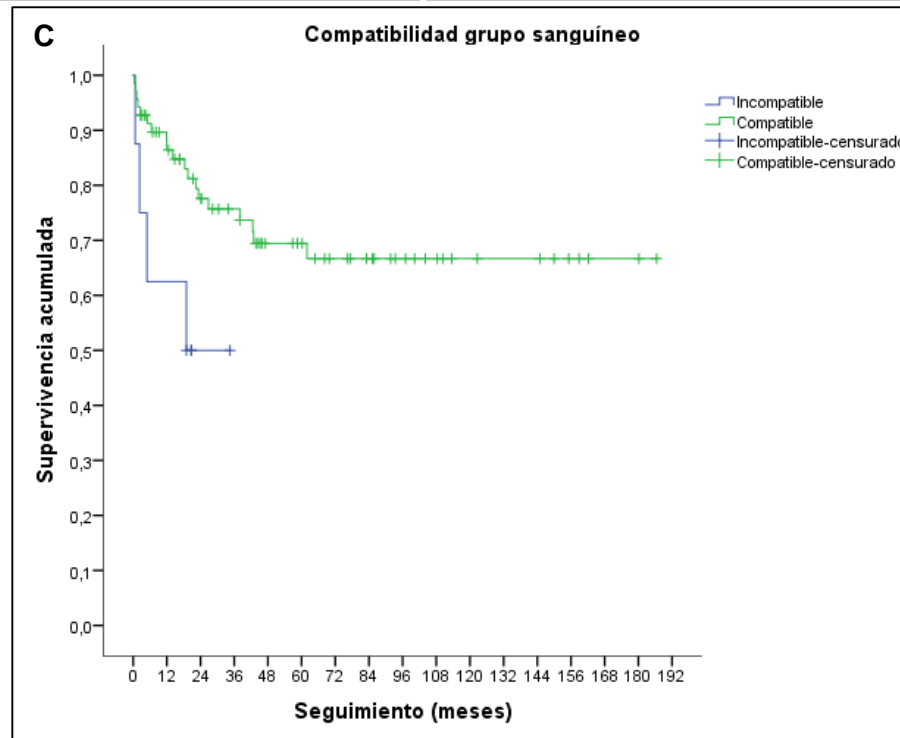
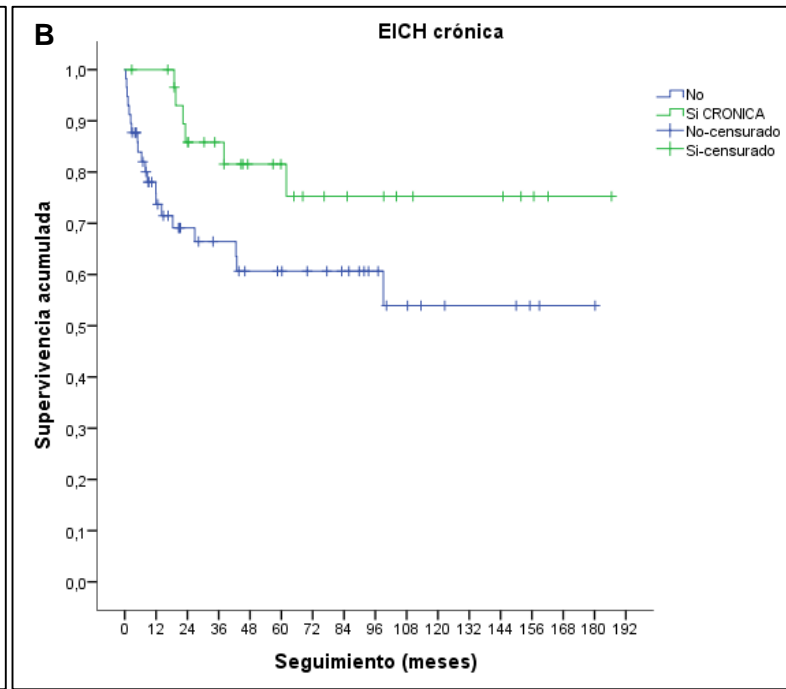
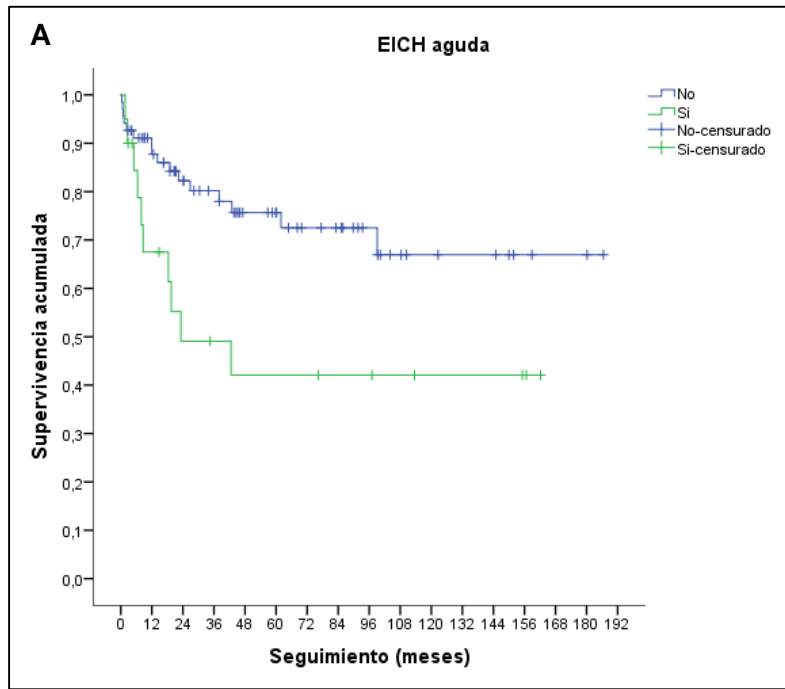


Figura 4. Supervivencia libre de enfermedad de los receptores de TCMH con donante idéntico de acuerdo a las variables EICH crónica, KIR3DS1 del donante y modelo de compatibilidad gen - gen.



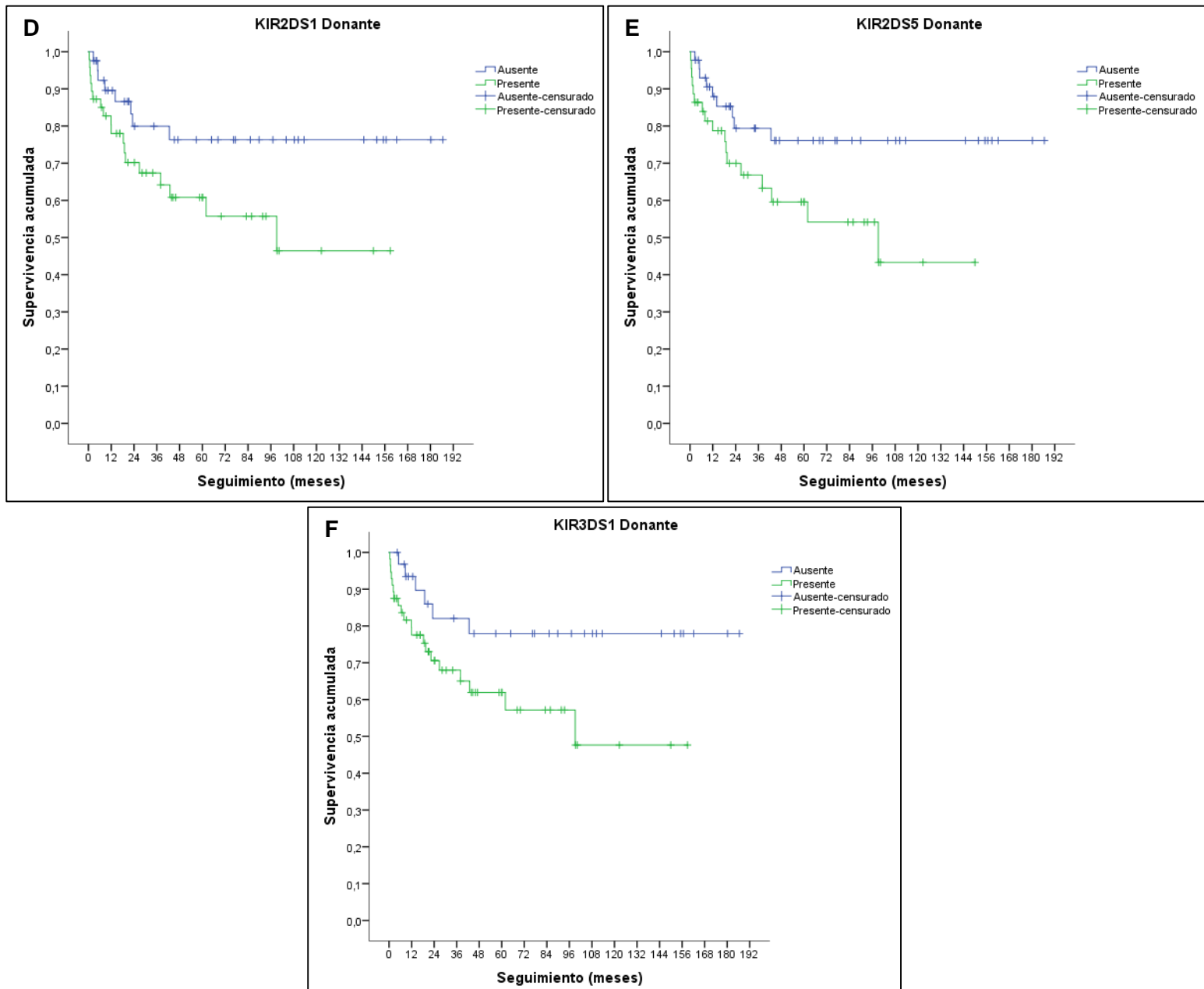


Figura 5. Mortalidad no relacionada a recaída de los receptores de TCMH con donante idéntico de acuerdo a las variables EICH aguda y crónica, grupo sanguíneo, KIR2DS1, KIR2DS5 y KIR3DS1 del donante.

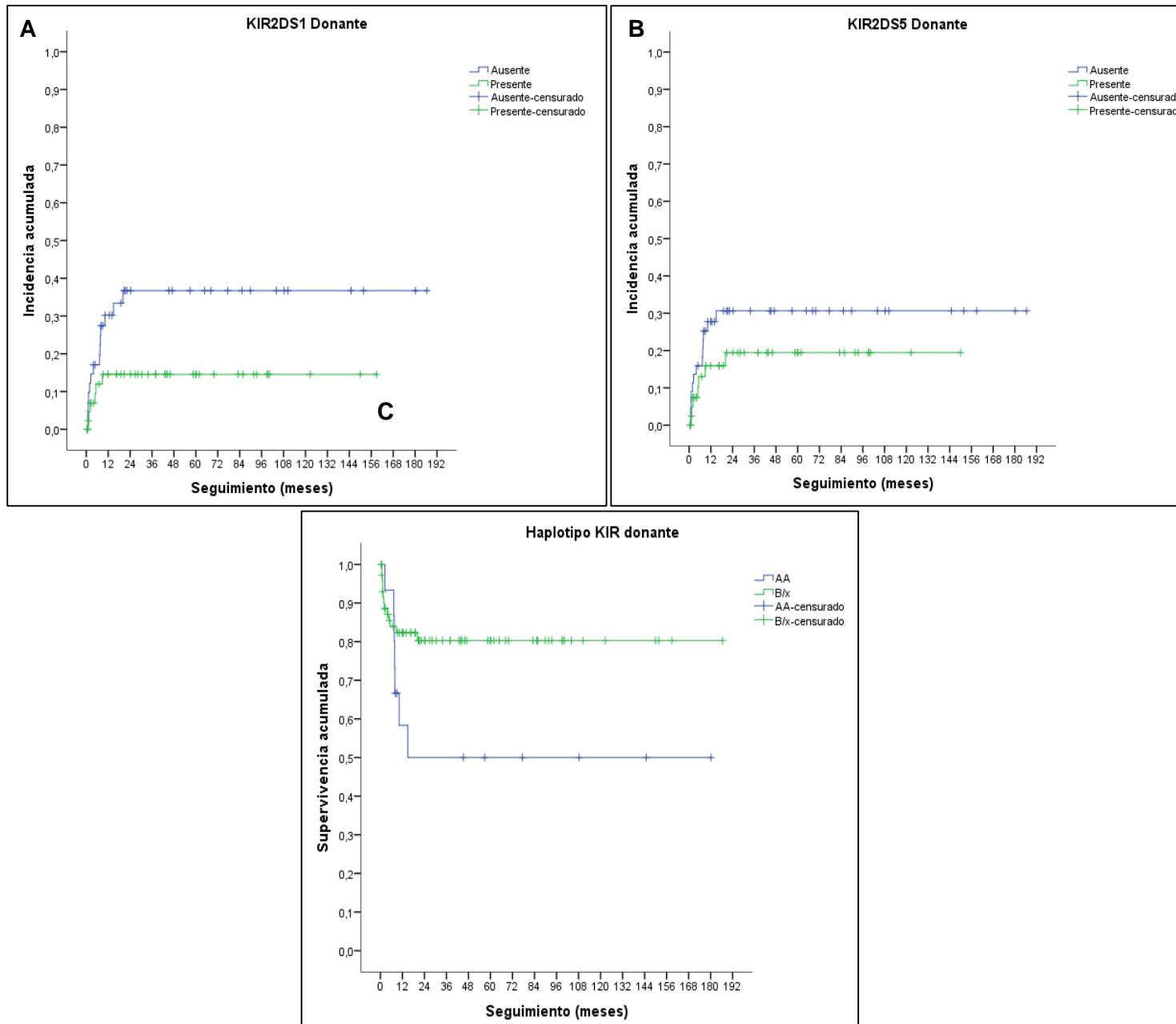


Figura 6. Incidencia acumulada de EICH aguda en receptores de TCMH con donante idéntico de acuerdo a las variables KIR2DS1 y KIR2DS5 del donante y haplotipo KIR del donante.

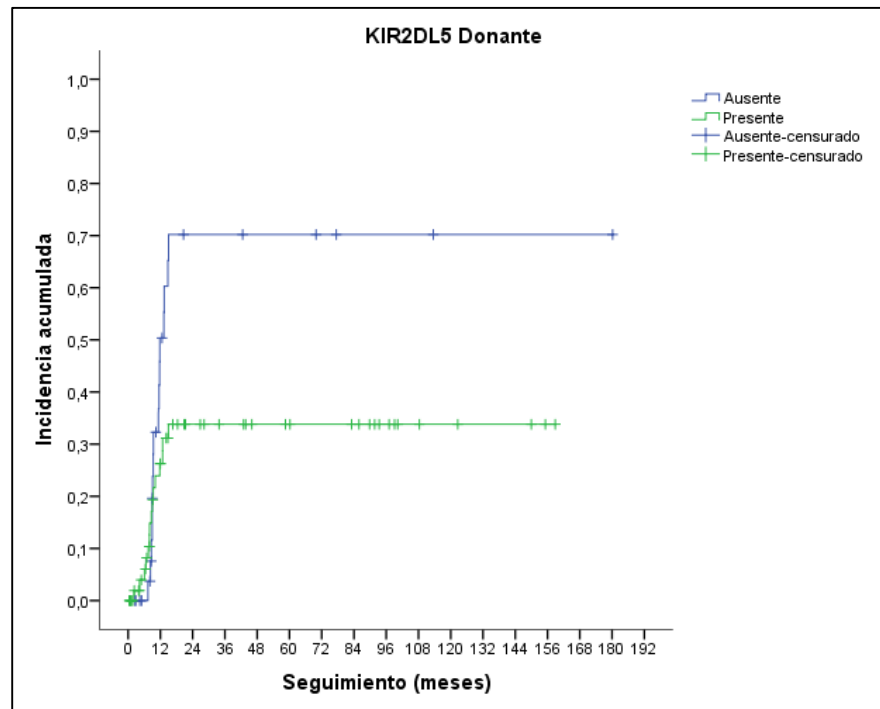
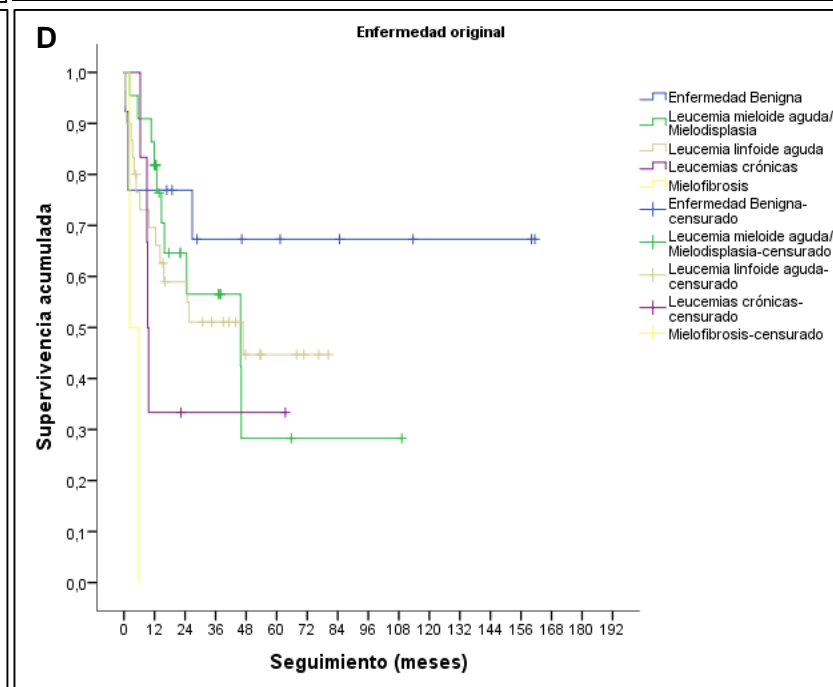
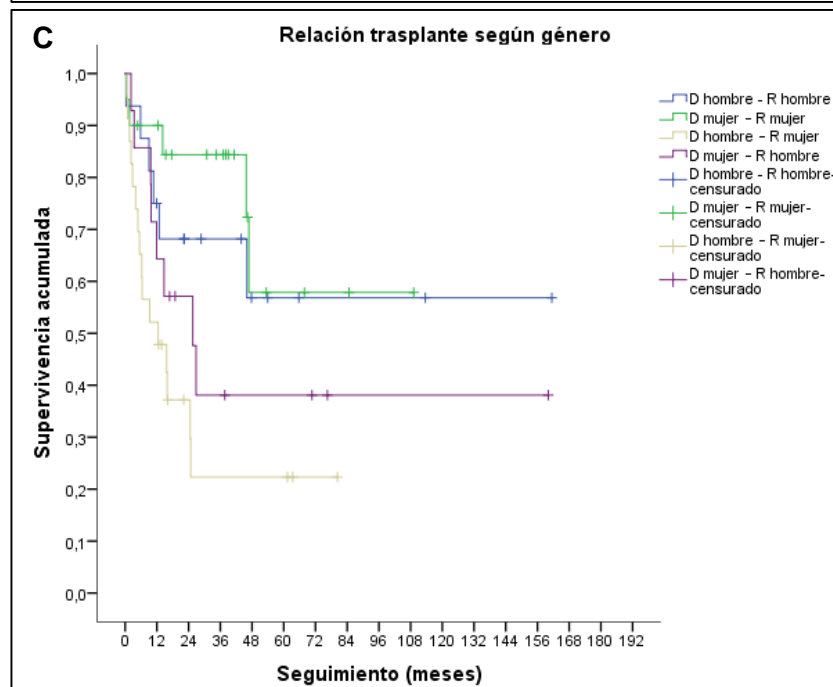
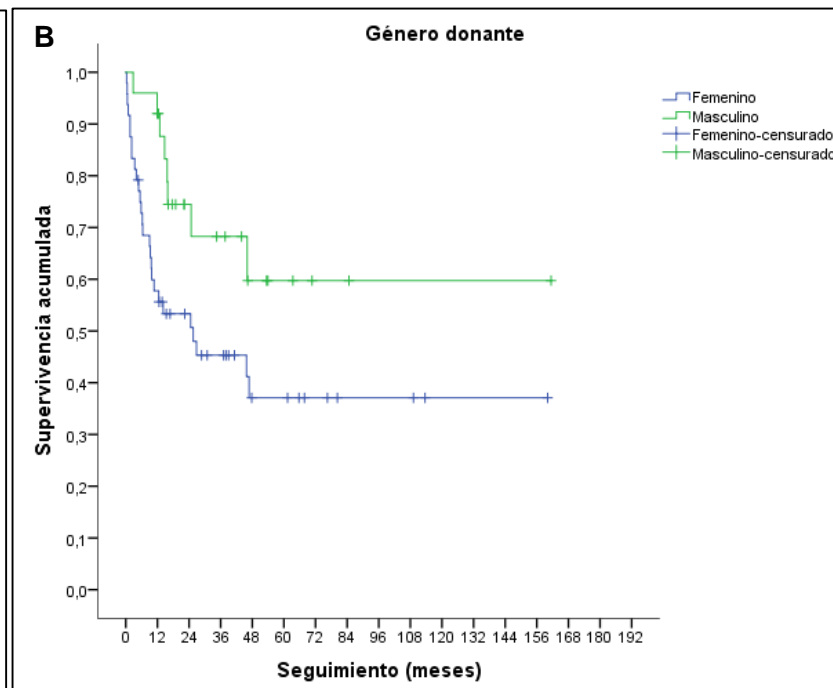
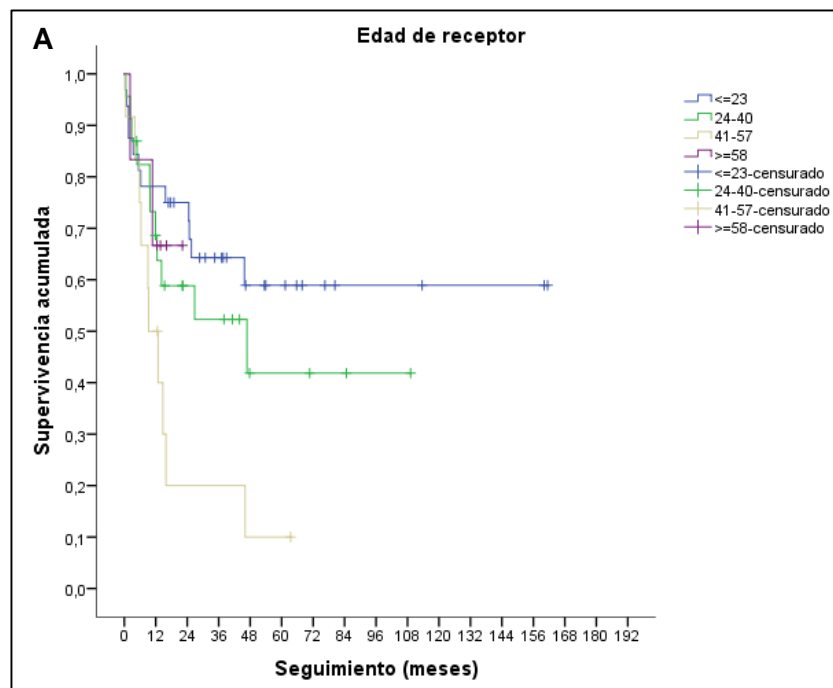


Figura 7. Incidencia acumulada de EICH crónica en receptores de TCMH con donante idéntico de acuerdo a la variable KIR2DL5 del donante.



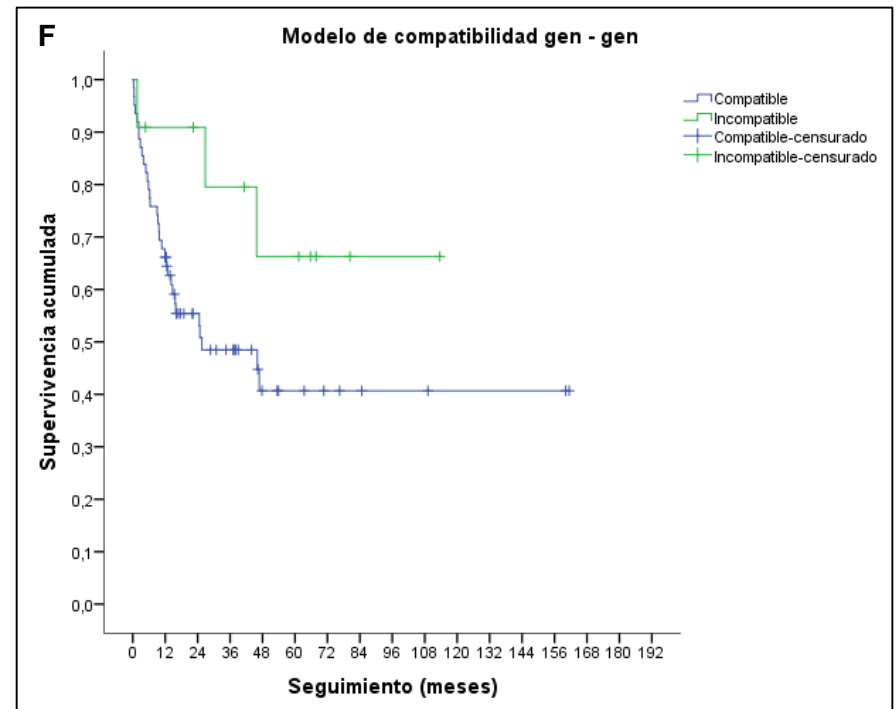
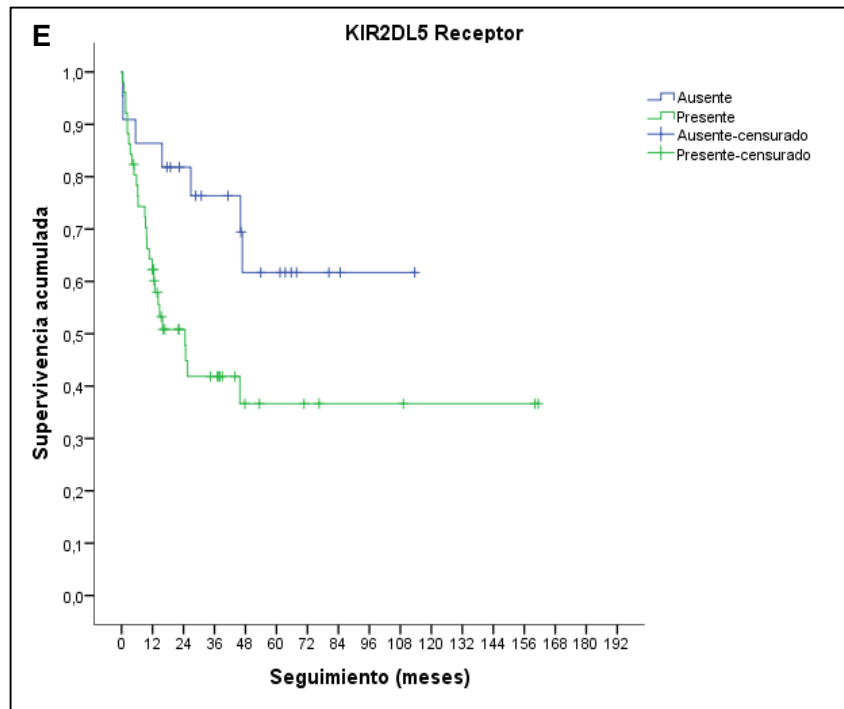
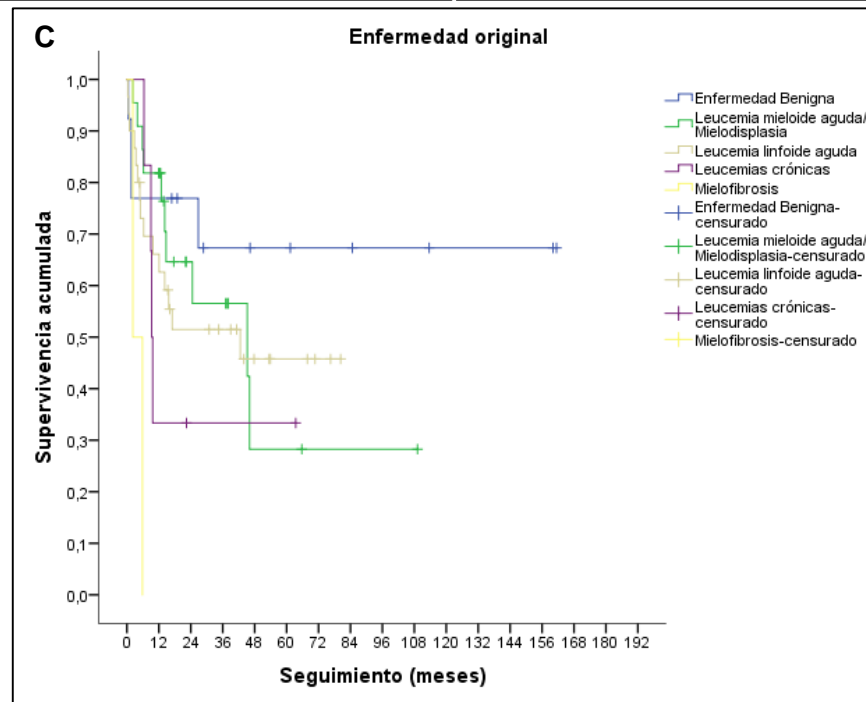
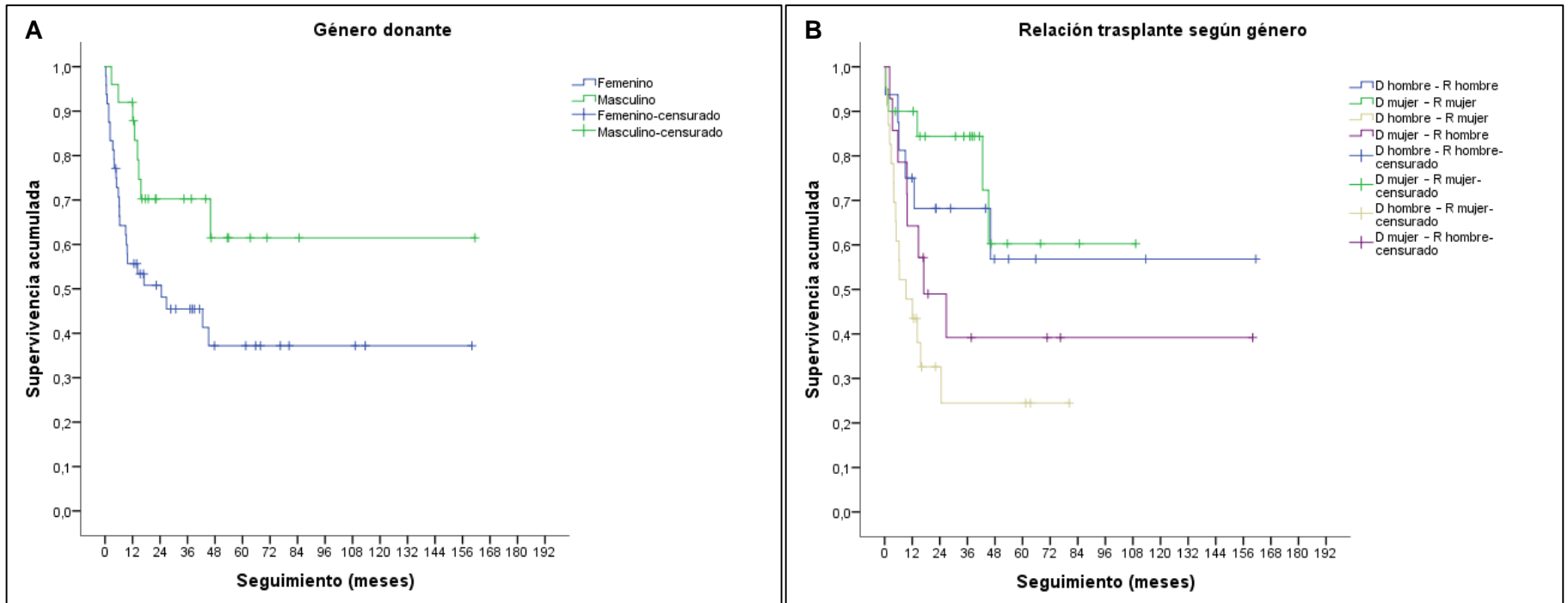


Figura 8. Supervivencia global de los receptores de TCMH con donante haploidentico de acuerdo a las variables edad del receptor, género del donante, relación del trasplante según género, enfermedad original, KIR2DL5 del receptor y el modelo de compatibilidad gen – gen.



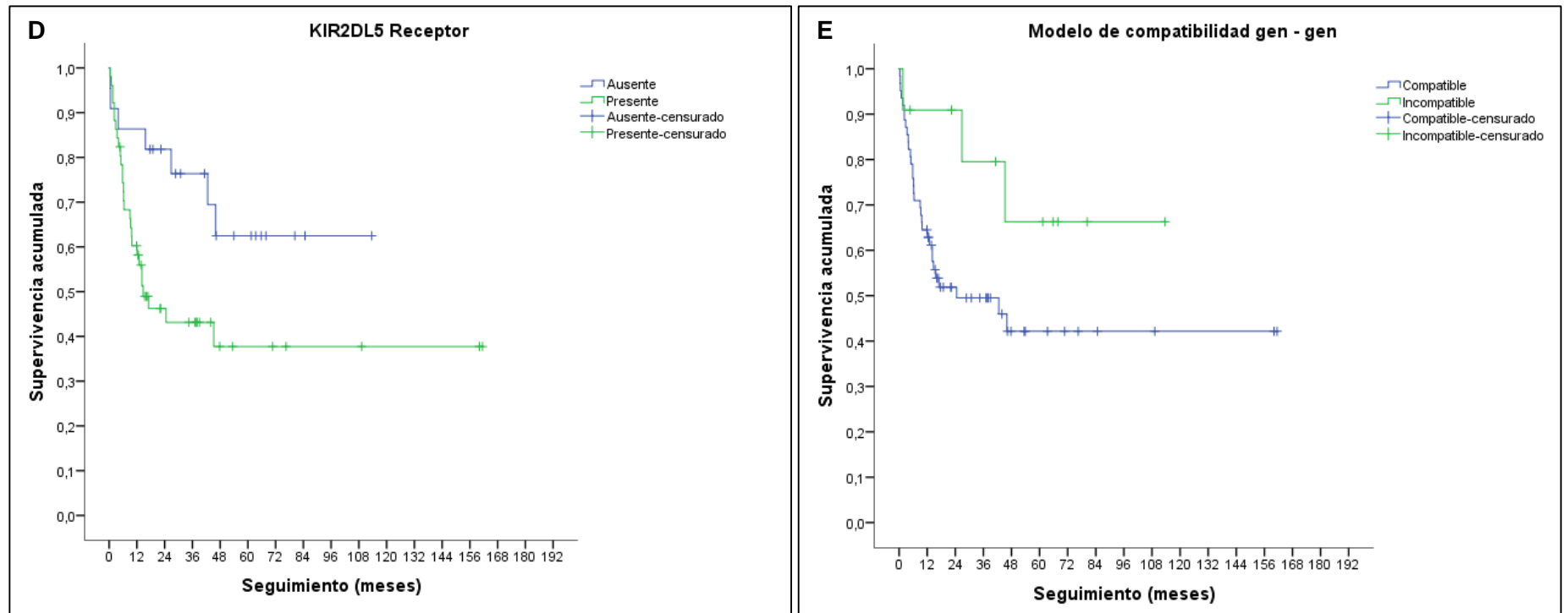


Figura 9. Supervivencia libre de enfermedad de los receptores de TCMH con donante haploidéntico de acuerdo a las variables género del donante, relación del trasplante según género, enfermedad original, KIR2DL5 del receptor y el modelo de compatibilidad gen – gen.

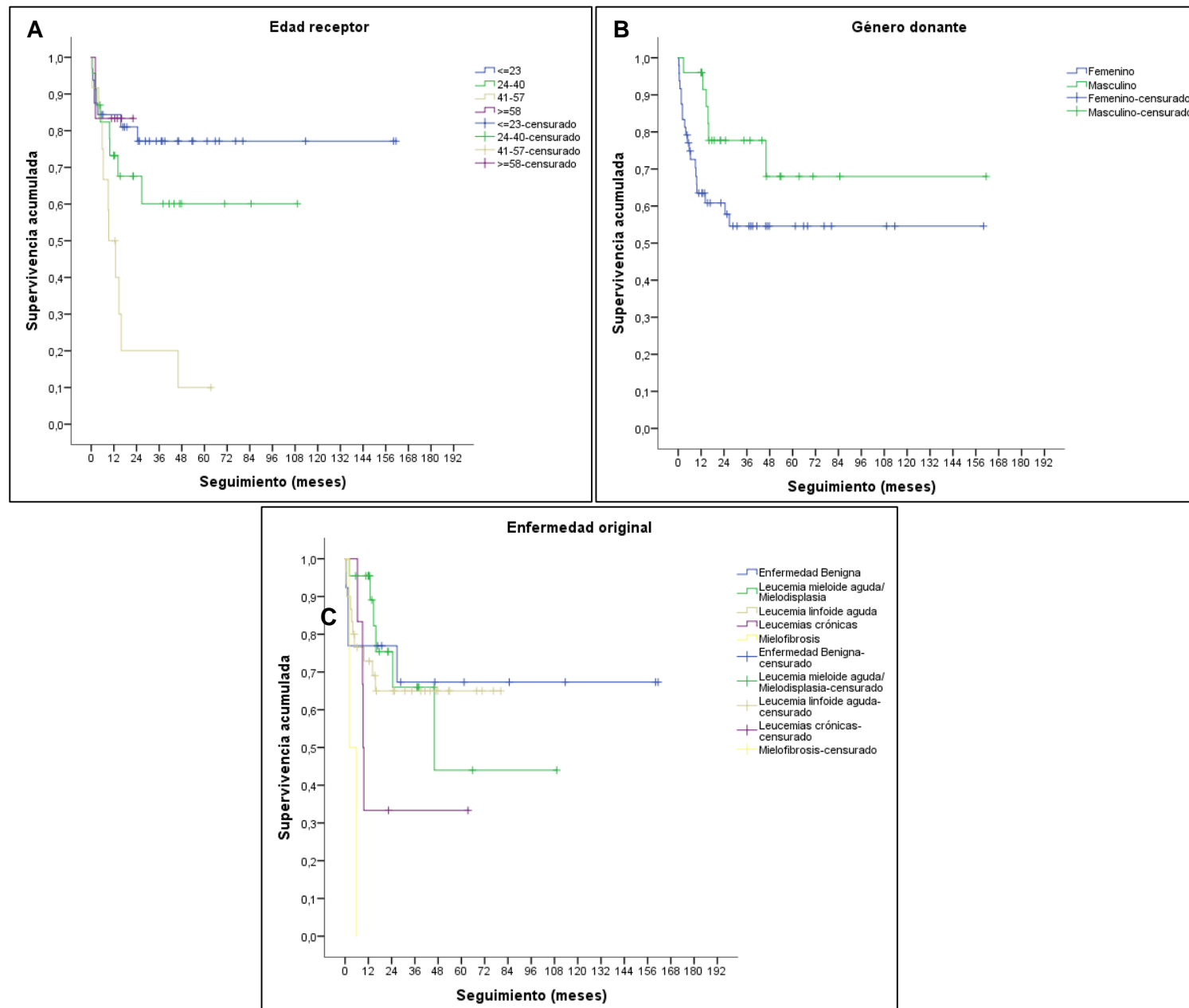


Figura 10. Mortalidad no relacionada a recaída de los receptores de TCMH con donante haploidéntico de acuerdo a las variables edad del receptor, género del donante, y enfermedad original.

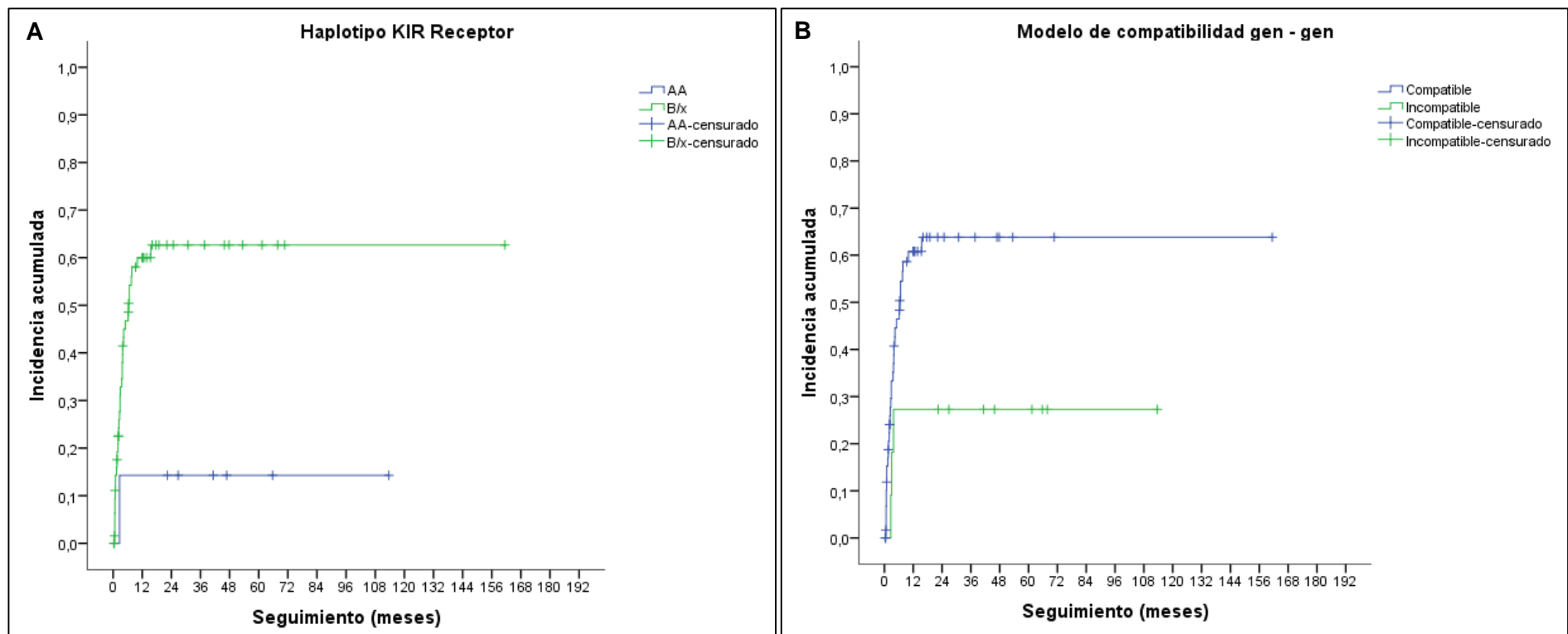


Figura 11. Incidencia acumulada de EICH aguda en receptores de TCMH con donante haploidéntico de acuerdo a las variables haplotipo KIR del receptor y modelo de compatibilidad gen - gen.

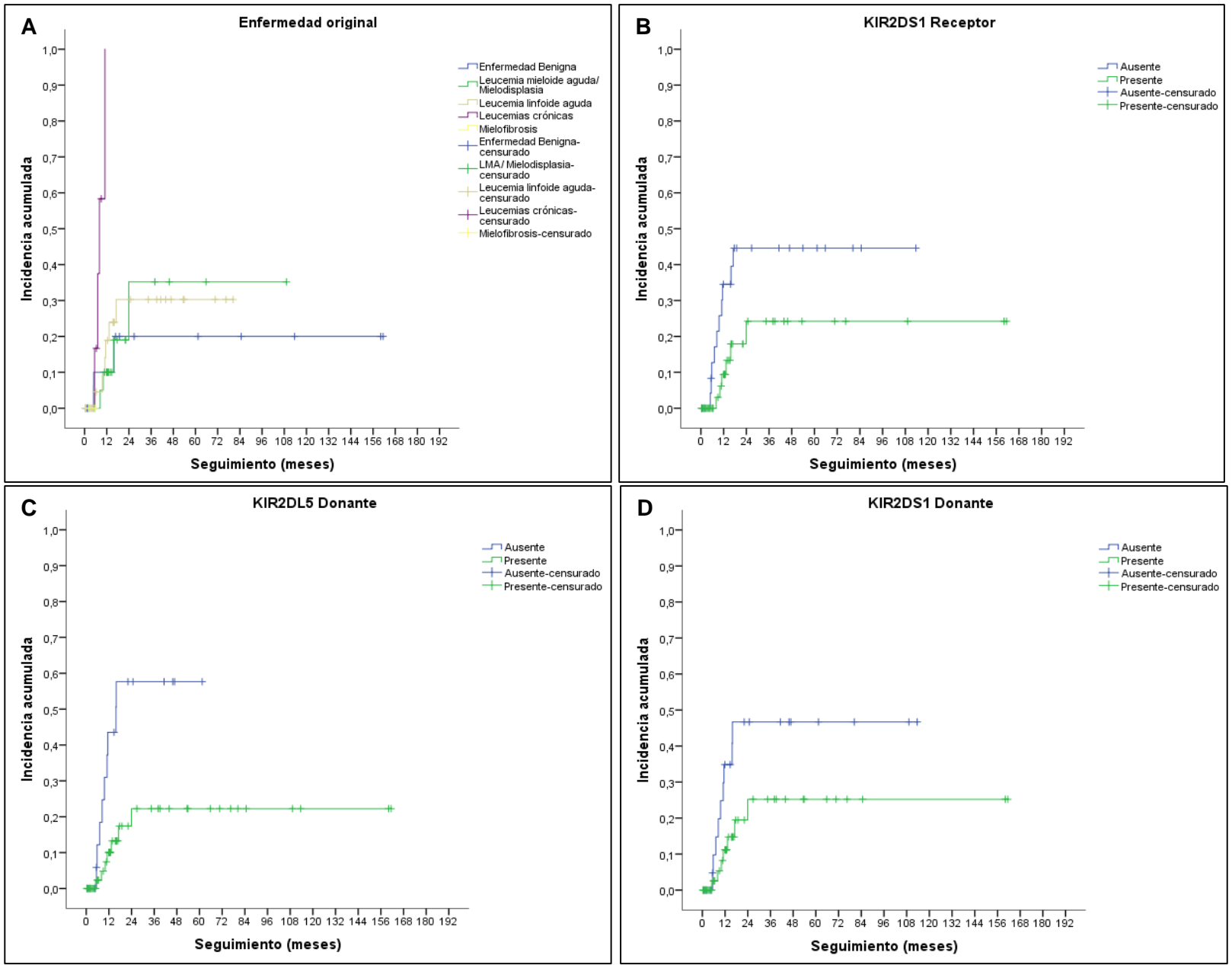


Figura 12. Incidencia acumulada de EIC crónica en receptores de TCMH con donante haploidéntico de acuerdo a las variables haplotipo enfermedad original, KIR2DS1 del receptor, KIR2DL5 y KIR2DS1 del donante.

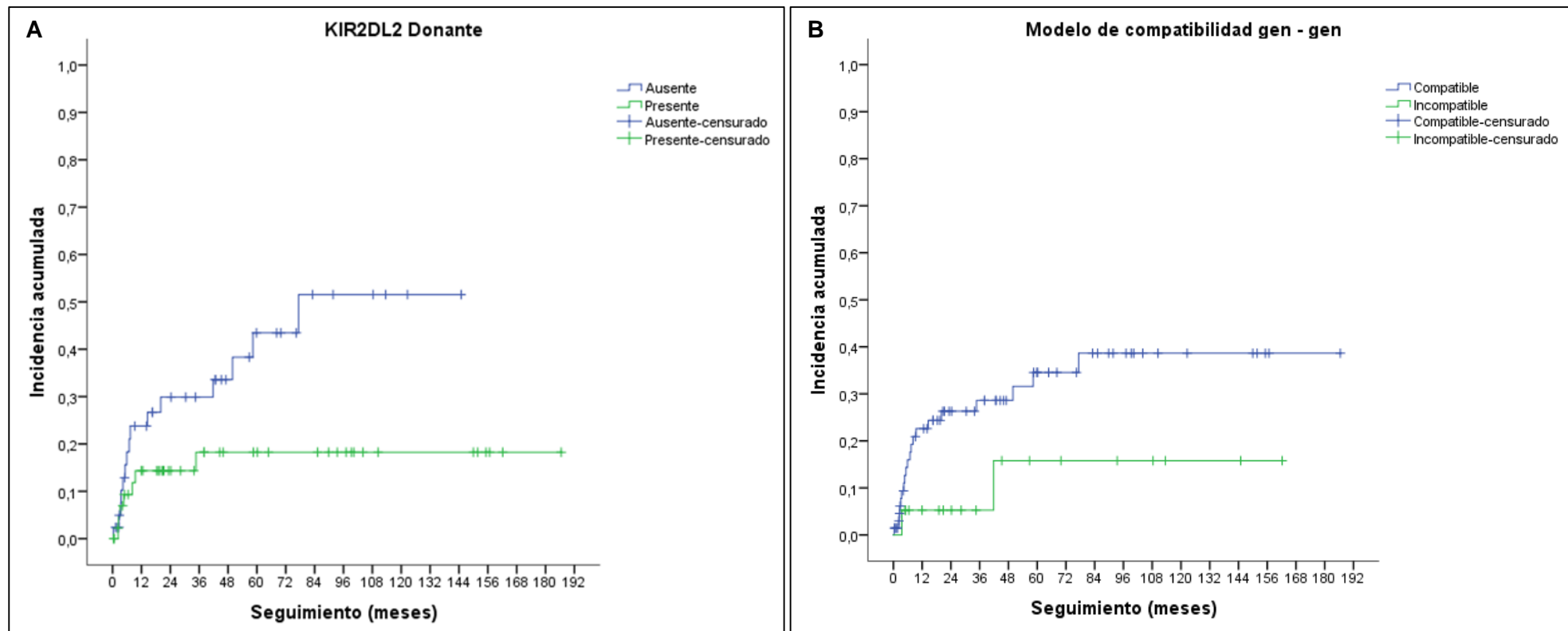


Figura 13. Incidencia acumulada de recaída en receptores de TCMH con donante idéntico de acuerdo a las variables KIR2DL2 del donante y modelo de compatibilidad gen – gen.

Tabla 1. Resumen estudios sobre la relación entre modelos de compatibilidad de receptores KIR y desenlaces del TCMH.

| | Autores | Cohorte de pacientes | Protocolo TCMH | Principales Hallazgos |
|---|---------------------------------|---|---|---|
| Modelo de compatibilidad de ligando - ligando | Ruggeri y col. (1999) 45 | 60 pacientes con LMA, LLA y LMC. | Eliminación de células T de las preparaciones de CMH. No tratamiento profiláctico para EICH. | Pacientes con leucemia mieloide tuvieron células NK alorreactivas del donante. Las células NK alorreactivas se asociaron con menor aparición de EICH, menores tasas de recaídas y mayor supervivencia libre de enfermedad. Las células NK alorreactivas lisaron células leucémicas residuales. |
| | Giebel y col. (2003) 46 | 130 pacientes con LMA, LLA, SMD, LMC entre otros. | TCMH entre individuos no relacionados. Régimen condicionante mieloablatoivo. Medula ósea como fuente de CMH. Tratamiento profiláctico para EICH. | La incompatibilidad entre ligandos de KIR se asoció con mejor supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad. |
| | Farag y col. (2006) 48 | 1571 pacientes con LMA, SMD, LMC | TCMH entre individuos no relacionados. Régimen condicionante mieloablatoivo. Medula ósea como fuente de CMH. | La incompatibilidad entre ligandos se asoció con mayor incidencia de EICH, mayor mortalidad relacionada al tratamiento y menor supervivencia libre de leucemia. |
| | Nowak y col. (2014) 47 | 283 pacientes con LMA, LLA, LC y MM. | TCMH entre individuos no relacionados. Régimen condicionante mieloablatoivo o de intensidad reducida. Eliminación de células T de las preparaciones de CMH en 20% de los pacientes. Tratamiento profiláctico para EICH. | La incompatibilidad entre ligandos se asoció con menor supervivencia debido a la progresión de la enfermedad. <u>Hipótesis</u> : “pérdida de prueba de licenciamiento” (missing licensing proof). Las células NK necesitan un licenciamiento en el paciente con las moléculas con las que fueron “educadas” previo al reconocimiento de las células leucémicas. Por lo tanto, la pérdida del ligando lleva a la no activación y por ende a peores desenlaces. |
| Modelo de compatibilidad de ligando - receptor | Chenl y col. (2012) 51 | 84 pacientes con LMA, LLA, SMD, EH, ENH, entre otros. | TCMH con donantes haploidénticos. Eliminación de células T de las preparaciones de CMH. Régimen condicionante no mieloablatoivo. | En el grupo de pacientes con malignidad mieloide, aquellos pacientes sin epítomos C2 para el respectivo KIR inhibidor del donante, presentaron mayor supervivencia y menor mortalidad relacionada con recaídas a enfermedad original. Por el contrario, en el grupo de pacientes con malignidad linfoide la pérdida de ligando no tuvo un efecto en la supervivencia o en la mortalidad. Igualmente, la presencia del receptor activador KIR2DS2 en el donante se asoció con mayor supervivencia. |
| | Zhao y col. (2014) 54 | 97 pacientes con LMC. | TCMH con donantes haploidénticos. Sin eliminación de células T de las preparaciones de CMH. Régimen condicionante mieloablatoivo. Tratamiento profiláctico para EICH. | Pacientes con el epítomo C2 (C2/C2 o C1/C2) con donantes positivos para el receptor activador KIR2DS2 o pacientes con el epítomo Bw4 con donantes positivos para el receptor activador KIR3DS1 tuvieron un riesgo reducido de recaídas. |
| | Park y col. (2015) 50 | 59 pacientes con LMA, LLA y SMD. | TCMH entre individuos relacionados y no relacionados. Sangre periférica como fuente de CMH. | De los 59 pacientes, 31 fueron trasplantados con donante HLA idéntico. De estos, 21 pacientes presentaban incompatibilidades en los receptores tipo KIR, y la incompatibilidad se asoció con mejor supervivencia libre de enfermedad y menor incidencia de recaídas. |
| | Mancusi y col. (2015) 53 | 161 pacientes con LMA y LLA. | TCMH con donantes haploidénticos. Eliminación de células T de las preparaciones de CMH. Sangre periférica como fuente de CMH. No tratamiento profiláctico para EICH. | En 69 trasplantes hubo alorreactividad de células NK. Dentro de estos trasplantes, la presencia de los genes KIR2DS1 y/o KIR3DS1 se asoció con menor riesgo de mortalidad no relacionada a recaída, menor tasa de infecciones y mejor supervivencia libre de enfermedad. Se demostró que KIR2DS1 se une a su ligando (epítomo C2) y regula positivamente la producción de citocinas inflamatorias por parte de las células NK alorreactivas en respuesta a retos infecciosos. |

| | | | | |
|---------------------------------------|-----------------------------------|---|---|---|
| Modelo de compatibilidad de gen - gen | MacQueen y col. (2007) 63 | 202 pacientes con LMA, LLA, LMC, LLC, SMD, entre otros. | TCMH entre individuos relacionados HLA idénticos. Régimen condicionante mieloablativo o de intensidad reducida. | Pacientes con el haplotipo B presentaron mejor supervivencia. Así mismo, mediante análisis sobre la asociación de genes individuales se demostró que el gen KIR2DS3 es un factor protector para la EICH crónica. |
| | Cooley y col. (2009) 58 | 448 pacientes con LMA. | TCMH entre individuos relacionados y no relacionados. Sin eliminación de células T de las preparaciones de CMH. | Los TCMH realizados con donantes con haplotipo B se asociaron con mayor supervivencia libre de enfermedad, aunque con mayor incidencia de EICH crónica. |
| | Gagne y col. (2009) 59 | 264 pacientes con LMA, LLA, LMC, MM, entre otros. | TCMH entre individuos no relacionados. Medula ósea como fuente de CMH. Sin eliminación de células T de las preparaciones de CMH. | El modelo de compatibilidad gen-gen de receptores KIR demostró una mayor asociación con supervivencia global, EICH aguda y recaída. En particular, incompatibilidades en los genes KIR2DL5 o KIR2DS1 se asociaron con mayor incidencia de EICH aguda, mientras que incompatibilidades en los genes KIR2DS3 se asociaron con una disminución en la EICH |
| | Cooley y col. (2010) 57 | 1409 pacientes con LMA y LLA. | TCMH entre individuos no relacionados. Régimen condicionante mieloablativo. | Los motivos centroméricos y teloméricos del haplotipo B en el donante se asociaron con mayor supervivencia y menor recaída en pacientes con LMA. |
| | Symons y col. (2010) 64 | 86 pacientes LMA, LLA, LMC, LLC, SMD, entre otros. | TCMH entre individuos relacionados HLA haploidénticos. Sin eliminación de células T de las preparaciones de CMH. Régimen condicionante no mieloablativo. Tratamiento profiláctico para EICH. | Pacientes con incompatibilidad génica de receptores KIR inhibidores presentaron mayor supervivencia global y mayor supervivencia libre de enfermedad con menores tasas de recaída. Igualmente, los pacientes con haplotipo A de receptores KIR tuvieron mejores desenlaces si eran trasplantados con donantes que expresaban al menos un haplotipo B de receptores KIR. |
| | Impola y col. (2014) 61 | 134 pacientes con LMA, LLA, LMC, LLC, SMD, entre otros. | TCMH entre individuos HLA idénticos. | Los pacientes cuyos donantes tenían los genes KIR2DL2 o KIR2DS2 (haplotipo B) presentaron una supervivencia libre de enfermedad mayor y menores tasas de recaída. |
| | Michaelis y col. (2014) 66 | 57 pacientes con LMA, LLA, MM, entre otros. | TCMH con donantes relacionados HLA haploidénticos. Eliminación de células T y B de las preparaciones de CMH. Régimen condicionante de intensidad reducida. Tratamiento profiláctico para EICH. | Pacientes que recibieron infusiones de CMH de donantes con haplotipo B de los receptores KIR presentaron una incidencia reducida de recaídas, sin importar la incompatibilidad entre los ligandos de dichos receptores. |
| | Cooley y col. (2014) | 1532 pacientes con LMA. | TCMH entre individuos no relacionados con compatibilidad completa o incompleta. Sin eliminación de células T de las preparaciones de CMH. Régimen condicionante mieloablativo | El haplotipo B de receptores KIR en el donante se asoció con mayor supervivencia libre de enfermedad y menor recaída. Este efecto se vio aumentado en pacientes con HLA-C con el epítipo C1 (C1/C1 o C1/C2). |
| | Faridi y col. (2016) 60 | 281 pacientes con leucemias mieloides y linfoides. | TCMH entre individuos relacionados y no relacionados. Tratamiento profiláctico para EICH. | Incompatibilidades a nivel de haplotipo de receptores KIR se asociaron con GVHD crónica la cual era independiente del tipo de donante y fue específica de receptores con HLA-C del subgrupo C1 (C1/x). Por otro lado, se observó una asociación entre la disminución en la incidencia de recaída y mejor supervivencia libre de recaídas en pacientes con la ausencia de uno o más ligandos para receptores KIR de su respectivo donante (particularmente en donantes no relacionados). |

| | | | |
|---------------------------------------|--|--|---|
| Bachanova y col. (2016) 62 | 614 pacientes con linfoma no Hodgkin. | TCMH entre individuos no relacionados con compatibilidad completa o incompleta. Sin eliminación de células T de las preparaciones de CMH. Régimen condicionante mieloablativo o de intensidad reducida. Tratamiento profiláctico para EICH. | Pacientes trasplantados con donantes con haplotipo B/x, presentaron menor incidencia de recaída en los primeros 5 años, además de mayor supervivencia libre de enfermedad en este periodo de tiempo. |
| Bastos-Oreiro y col. (2016) 65 | 33 pacientes LMA, LLA, SMD, entre otros. | TCMH con donantes HLA haploidénticos. Sin eliminación de células T de las preparaciones de CMH. Régimen condicionante mieloablativo o de intensidad reducida. Tratamiento profiláctico para EICH. | Pacientes con al menos una incompatibilidad entre genes de receptores KIR inhibidores con su respectivo donante, presentaron mejor supervivencia libre de enfermedad y menor incidencia de recaída (principalmente en pacientes con linfoma Hodgkin). |

Tabla 2. Características demográficas de los receptores y donantes.

| CARACTERISTICAS | Receptor | Donante |
|---|-----------------|----------------|
| Edad receptor¹ | 34 (6 – 74) | 36 (4 – 64) |
| Genero² | | |
| Mujeres | 81 (50,3) | 95 (59) |
| Hombres | 80 (49,7) | 66 (41) |
| Tipo de donante² | | |
| Hermano(a) | 109 (67,7) | |
| Hijo(a) | 10 (6,2) | |
| Padre | 8 (5) | |
| Madre | 34 (21,1) | |
| Relación trasplante según género² | | |
| Donante hombre - Receptor hombre | 35 (21,7) | |
| Donante mujer – Receptor mujer | 50 (31,1) | |
| Donante hombre – Receptor mujer | 45 (28) | |
| Donante mujer – Receptor hombre | 31 (19,3) | |

¹ Mediana y rango.

² Frecuencia absoluta y relativa.

Tabla 3. Características clínicas de los receptores.

| CARACTERISTICAS | |
|--|---------------------|
| Seguimiento en meses¹ | 24,3 (0,3-186,5). |
| Supervivencia en meses¹ | 96,8 (11,9 – 186,5) |
| Tipo de trasplante² | |
| Idéntico | 88 (54,7) |
| Haploidéntico | 73 (45,3) |
| Fuente de células hematopoyéticas² | |
| Sangre periférica | 155 (96,3) |
| Médula ósea | 6 (3,7) |
| Estatus serológico CMV² | |
| Donante+ /Receptor+ | 108 (67,1) |
| Donante+ /Receptor- | 6 (3,7) |
| Donante- /Receptor+ | 10 (6,2) |
| Donante- /Receptor- | 1 (0,6) |
| Enfermedad original² | |
| Leucemia linfoide aguda | 53 (32,9) |
| Leucemia mieloide aguda/ Mielodisplasia | 55 (34,2) |
| Leucemias crónicas/Linfomas | 17 (10,6) |
| Mielofibrosis | 5 (3,1) |
| Enfermedades benignas | 31 (19,2) |
| Índice de riesgo enfermedad (DRI)² | |
| 1 (Bajo) | 44 (27,3) |
| 2 (Intermedio) | 7 (4,3) |
| 3 (Alto) | 4 (2,5) |
| 4 (Muy alto) | 1 (0,6) |
| Comorbilidades² | |
| Infección | 37 (23) |
| Infección – Enfermedad cardiaca | 1 (0,6) |
| Infección – Perturbación psiquiátrica | 2 (1,2) |
| Tumor sólido | 4 (2,5) |
| Tumor sólido – Perturbación psiquiátrica | 1 (0,6) |
| Diabetes | 3 (1,9) |
| Diabetes – Infección | 1 (0,6) |
| Diabetes – Perturbación psiquiátrica | 1 (0,6) |
| Obesidad | 3 (1,9) |
| Enfermedad renal | 2 (1,2) |
| Enfermedad cerebral | 1 (0,6) |
| Perturbación psiquiátrica | 1 (0,6) |
| Tratamiento profiláctico EICH² | |
| Ciclosporina | 94 (58,4) |
| Ciclosporina – Micofenolato | 67 (41,6) |
| Régimen condicionante² | |
| Mieloablatoivo | 54 (33,5) |
| No mieloablatoivo | 10 (6,2) |
| Régimen de intensidad reducida | 97 (60,3) |

| | |
|---|-------------------|
| Desenlaces² | |
| EICH aguda | 57 (35,4) |
| EICH crónica | 47 (29,2) |
| Recaída | 31 (19,3) |
| Rechazo | 5 (3,11) |
| Seguimiento hasta desenlace en meses² | |
| EICH aguda | 10,2 (0,6 – 20,1) |
| EICH crónica | 11,9 (2,2 – 23,9) |
| Recaída | 22,1 (0,3 – 77,3) |

¹ Mediana y rango.

² Frecuencia absoluta y relativa.

Tabla 4. Características inmunológicas de los receptores y donantes.

| | |
|--|------------|
| CARACTERISTICAS | |
| Incompatibilidad Grupo sanguíneo¹ | |
| Compatibilidad | 126 (78,3) |
| Incompatibilidad | 23 (14,3) |
| Incompatibilidad HLA^{1,3} | |
| 0 incompatibilidades | 87 (54) |
| 1 incompatibilidad | 3 (1,9) |
| 2 incompatibilidades | 4 (2,5) |
| 3 incompatibilidades | 8 (5) |
| 4 incompatibilidades | 9 (5,6) |
| 5 incompatibilidades | 24 (14,9) |
| 6 incompatibilidades | 26 (16,1) |
| PRA cualitativo clase I^{1,2} | |
| Positivo | 7 (9,6) |
| Negativo | 42 (57,5) |
| PRA cualitativo clase II^{1,2} | |
| Positivo | 11 (15,1) |
| Negativo | 38 (52,1) |
| PRA antígeno único clase I^{1,2} | |
| 0-24% | 7 (9,6) |
| 25-48% | 2 (2,7) |
| PRA antígeno único clase II^{1,2} | |
| 0-14% | 5 (6,8) |
| 15-29% | 4 (5,5) |
| Haplotipos KIR receptor¹ | |
| AA | 23 (14,3) |
| B/x | 138 (85,7) |
| Haplotipos KIR donante¹ | |
| AA | 21 (13) |
| B/x | 140 (87) |
| Modelo de compatibilidad ligando – ligando de KIR^{1,2} | |
| Compatibilidad | 31 (42,5) |
| Incompatibilidad | 40 (54,8) |
| Modelo de compatibilidad ligando – receptor KIR^{1,2} | |
| Compatibilidad | 46 (64,8) |
| Incompatibilidad | 25 (35,2) |
| Modelo de compatibilidad gen – gen de receptores KIR¹. | |
| Compatibilidad | 131 (81,4) |
| Incompatibilidad | 30 (18,6) |

¹ Frecuencia absoluta y relativa.

² Receptores de TCMH con donante haploide

³ Se consideraron 10 o 12 alelos para la compatibilidad, dependiendo del método de tipificación del HLA

Tabla 5. Frecuencias génicas y genotípicas de receptores KIR en receptores de TCMH.

| GENOTIPOS | 3DL3 | 2DS2 | 2DL2 | 2DL3 | 2DP1 | 2DL1 | 3DP1 | 2DL4 | 3DL1 | 3DS1 | 2DL5 | 2DS3 | 2DS5 | 2DS4 | 2DS1 | 3DL2 | N° loci | n | f |
|-----------------------------|------|---------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|------|------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|---------|----|--------|
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | 8 | 1 | 0,0062 |
| 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | 9 | 23 | 0,1429 |
| 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | 10 | 7 | 0,0435 |
| 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | 10 | 1 | 0,0062 |
| 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 16 | 0,0994 |
| 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 2 | 0,0124 |
| 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 1 | 0,0062 |
| 13 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 2 | 0,0124 |
| 14 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 2 | 0,0124 |
| 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 4 | 0,0248 |
| 16 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 2 | 0,0124 |
| 17 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 0,0062 |
| 18 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 0,0062 |
| 19 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 0,0062 |
| 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 0,0062 |
| 24 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 35 | 0,2174 |
| 25 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 6 | 0,0373 |
| 26 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 1 | 0,0062 |
| 27 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 4 | 0,0248 |
| 28 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 1 | 0,0062 |
| 29 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 3 | 0,0186 |
| 31 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 1 | 0,0062 |
| 32 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,0062 |
| 33 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 2 | 0,0124 |
| 34 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,0062 |
| 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,0062 |
| 36 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,0062 |
| 37 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,0062 |
| 39 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,0062 |
| 40 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 2 | 0,0124 |
| 41 | | | | | | | | | | | | | | | | | 15 | 30 | 0,1863 |
| 42 | | | | | | | | | | | | | | | | | 15 | 2 | 0,0124 |
| 43 | | | | | | | | | | | | | | | | | 15 | 3 | 0,0186 |
| CONTEO DIRECTO (CD) | 161 | 88 | 87 | 144 | 155 | 155 | 161 | 161 | 148 | 106 | 109 | 24 | 97 | 148 | 95 | 161 | | | |
| FRECUENCIA PORTADOR (FP) | 1 | 0,547 | 0,54 | 0,894 | 0,963 | 0,963 | 1 | 1 | 0,919 | 0,658 | 0,677 | 0,149 | 0,602 | 0,919 | 0,59 | 1 | | | |
| FRECUENCIA GENICA (FG) | 1 | 0,327 | 0,322 | 0,675 | 0,807 | 0,807 | 1 | 1 | 0,716 | 0,416 | 0,432 | 0,078 | 0,37 | 0,716 | 0,36 | 1 | | | |
| INTERVALO DE CONFIANZA (IC) | | 0,275 - 0,378 | 0,271 - 0,373 | 0,624 - 0,726 | 0,764 - 0,85 | 0,764 - 0,85 | | | 0,667 - 0,765 | 0,362 - 0,469 | 0,378 - 0,486 | 0,048 - 0,107 | 0,317 - 0,422 | 0,667 - 0,765 | 0,307 - 0,412 | | | | |



 Presencia
 Ausencia

Tabla 6. Frecuencias génicas y genóticas de receptores KIR en donantes de TCMH.

| GENOTIPOS | 3DL3 | 2DS2 | 2DL2 | 2DL3 | 2DP1 | 2DL1 | 3DP1 | 2DL4 | 3DL1 | 3DS1 | 2DL5 | 2DS3 | 2DS5 | 2DS4 | 2DS1 | 3DL2 | N°loci | n | f |
|-----------------------------|------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|--------|----|---------|
| 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | 8 | 2 | 0,01242 |
| 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | 9 | 1 | 0,00621 |
| 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | 9 | 20 | 0,12422 |
| 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | 10 | 12 | 0,07453 |
| 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | 10 | 1 | 0,00621 |
| 7 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 11 | 0,06832 |
| 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 1 | 0,00621 |
| 9 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 3 | 0,01863 |
| 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 1 | 0,00621 |
| 11 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 1 | 0,00621 |
| 12 | | | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 1 | 0,00621 |
| 13 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 3 | 0,01863 |
| 14 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 4 | 0,02484 |
| 15 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 2 | 0,01242 |
| 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 0,00621 |
| 21 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 0,00621 |
| 22 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 0,00621 |
| 23 | | | | | | | | | | | | | | | | | 12 | 1 | 0,00621 |
| 24 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 31 | 0,19255 |
| 25 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 4 | 0,02484 |
| 27 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 1 | 0,00621 |
| 29 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 4 | 0,02484 |
| 30 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 1 | 0,00621 |
| 31 | | | | | | | | | | | | | | | | | 13 | 1 | 0,00621 |
| 32 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,00621 |
| 33 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,00621 |
| 35 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,00621 |
| 36 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,00621 |
| 37 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,00621 |
| 38 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 1 | 0,00621 |
| 39 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 2 | 0,01242 |
| 40 | | | | | | | | | | | | | | | | | 14 | 2 | 0,01242 |
| 41 | | | | | | | | | | | | | | | | | 15 | 28 | 0,17391 |
| 42 | | | | | | | | | | | | | | | | | 15 | 4 | 0,02484 |
| 43 | | | | | | | | | | | | | | | | | 15 | 1 | 0,00621 |
| 44 | | | | | | | | | | | | | | | | | 15 | 1 | 0,00621 |
| 45 | | | | | | | | | | | | | | | | | 16 | 8 | 0,04969 |
| CONTEO DIRECTO (CD) | 161 | 86 | 87 | 143 | 153 | 153 | 161 | 161 | 151 | 115 | 111 | 32 | 92 | 150 | 96 | 161 | | | |
| FRECUENCIA PORTADOR (FP) | 1 | 0,534 | 0,54 | 0,888 | 0,95 | 0,95 | 1 | 1 | 0,938 | 0,714 | 0,689 | 0,199 | 0,571 | 0,932 | 0,596 | 1 | | | |
| FRECUENCIA GENICA (FG) | 1 | 0,317 | 0,322 | 0,666 | 0,777 | 0,777 | 1 | 1 | 0,751 | 0,465 | 0,443 | 0,105 | 0,345 | 0,739 | 0,365 | 1 | | | |
| INTERVALO DE CONFIANZA (IC) | | 0,267 - 0,368 | 0,271 - 0,373 | 0,614 - 0,717 | 0,732 - 0,823 | 0,732 - 0,823 | | | 0,704 - 0,798 | 0,411 - 0,52 | 0,388 - 0,497 | 0,071 - 0,138 | 0,293 - 0,397 | 0,691 - 0,787 | 0,312 - 0,417 | | | | |



 Presencia
 Ausencia

Tabla 7. Haplotipos, frecuencias génicas y haplotípicas de receptores KIR en receptores

| HAPLOTIPO | NOMENCLATURA ^a | 3DL3 | 2DS2 | 2DL2 | 2DL3 | 2DP1 | 2DL1 | 3DP1 | 2DL4 | 3DL1 | 3DS1 | 2DL5 | 2DS3 | 2DS5 | 2DS4 | 2DS1 | 3DL2 | N° loci | n | f |
|-----------|-------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------|-----|----------|
| 1 | cA01-tA01 (1) | ■ | | | | | | | | | | | | | ■ | | | 9 | 145 | 0,450311 |
| 2 | cA01-tB01 2DS5 (2) | ■ | | | | | | | | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | 11 | 51 | 0,158385 |
| 3 | cA01-tB01 2DS3(3) | ■ | | | | | | | | | ■ | ■ | ■ | | | ■ | | 11 | 2 | 0,006211 |
| 4 | cB02-tA01 (4) | | ■ | ■ | | | | | | | | | | | ■ | | | 8 | 32 | 0,099379 |
| 5 | cB01-tA01 2DS3 (7) | | | | | | | | | | | ■ | ■ | | | | | 12 | 11 | 0,034161 |
| 6 | cB01-tA01 2DS5(6) | | | | | | | | | | | ■ | | ■ | ■ | | | 12 | 1 | 0,003106 |
| 7 | cB02-tB01 (8) | | | | | | | | | | ■ | | | ■ | | ■ | | 10 | 40 | 0,124224 |
| 8 | cB01-tB01 2DS3 (10) | | | | | | | | | | | ■ | ■ | | | | | 12 | 8 | 0,024845 |
| 9 | cB01-tB01 2DS5 (11) | | | | | | | | | | | ■ | | ■ | | | | 13 | 1 | 0,003106 |
| 10 | cB04-tB03 2DS5 (12) | | | ■ | | | | | | | | ■ | | | | ■ | | 7 | 4 | 0,012422 |
| 11 | cA01-tB05 (15) | | | | | | | | | | ■ | | | | ■ | | | 10 | 13 | 0,040373 |
| 12 | cB05-tA01 (16) | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | 9 | 1 | 0,003106 |
| 14 | cB03-tA01 2DS3 (18) | | | | | | | | | | | ■ | ■ | | | | | 11 | 1 | 0,003106 |
| 15 | cB01-tB05 (19) | | ■ | ■ | | | | | | | ■ | ■ | ■ | | | | | 13 | 1 | 0,003106 |
| 16 | cB01-tA01 2DS5 sin 2DS2 (20) | | | ■ | | | | | | | | ■ | | ■ | ■ | | | 11 | 4 | 0,012422 |
| 21 | H4 | | ■ | | | | | | | | | | | | | | | 11 | 4 | 0,012422 |
| 22 | H5 | | | | | | | | | | | ■ | | | | ■ | | 12 | 1 | 0,003106 |
| 23 | H6 | | | | | | | | | | | ■ | | | ■ | | | 12 | 1 | 0,003106 |
| 24 | C1 | | | | | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | 12 | 1 | 0,003106 |
| | CONTEO DIRECTO (CD) | 322 | 103 | 102 | 218 | 242 | 242 | 318 | 318 | 215 | 123 | 131 | 24 | 108 | 215 | 109 | 322 | | | |
| | FRECUENCIA GENICA CONTEO DIRECTO | 1 | 0,32 | 0,32 | 0,68 | 0,75 | 0,75 | 0,99 | 0,99 | 0,67 | 0,38 | 0,41 | 0,07 | 0,34 | 0,67 | 0,34 | 1 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

■ Presencia
□ Ausencia

^a Haplotipo de referencia en paréntesis

Tabla 8. Haplotipos, frecuencias génicas y haplotípicas de receptores KIR en donantes

| HAPLOTIPO | NOMENCLATURA ^a | 3DL3 | 2DS2 | 2DL2 | 2DL3 | 2DP1 | 2DL1 | 3DP1 | 2DL4 | 3DL1 | 3DS1 | 2DL5 | 2DS3 | 2DS5 | 2DS4 | 2DS1 | 3DL2 | N° loci | n | f |
|-----------|-------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---------|-----|----------|
| 1 | cA01~tA01 (1) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | | | | ■ | | ■ | 9 | 134 | 0,416149 |
| 2 | cA01~tB01 2DS5 (2) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 11 | 53 | 0,164596 |
| 3 | cA01~tB01 2DS3(3) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | 11 | 2 | 0,006211 |
| 4 | cB02~tA01 (4) | ■ | ■ | ■ | | | ■ | | ■ | ■ | | | | | ■ | | ■ | 8 | 32 | 0,099379 |
| 5 | cB01~tA01 2DS3 (7) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | 12 | 16 | 0,049689 |
| 7 | cB02~tB01 (8) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 10 | 35 | 0,108696 |
| 8 | cB01~tB01 2DS3 (10) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | 12 | 8 | 0,024845 |
| 9 | cB01~tB01 2DS5 (11) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | 13 | 3 | 0,009317 |
| 10 | cB04~tB03 2DS5 (12) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 7 | 2 | 0,006211 |
| 11 | cA01~tB05 (15) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 10 | 19 | 0,059006 |
| 13 | cA01~tB06 (17) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | 12 | 1 | 0,003106 |
| 14 | cB03~tA01 2DS3 (18) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 11 | 1 | 0,003106 |
| 15 | cB01~tB05 (19) | ■ | ■ | ■ | | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | 13 | 1 | 0,003106 |
| 16 | cB01~tA01 2DS5 sin 2DS2 (20) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 11 | 5 | 0,015528 |
| 17 | cA02~tB02 (21) | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 7 | 1 | 0,003106 |
| 18 | H1 | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 8 | 1 | 0,003106 |
| 19 | H2 | ■ | ■ | | | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 9 | 1 | 0,003106 |
| 20 | H3 | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 9 | 1 | 0,003106 |
| 21 | H4 | ■ | ■ | | | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 11 | 1 | 0,003106 |
| 24 | C1 | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 12 | 3 | 0,009317 |
| 25 | C2 | ■ | | | ■ | | ■ | | ■ | ■ | | ■ | | ■ | | ■ | | 9 | 2 | 0,006211 |
| | CONTEO DIRECTO (CD) | 322 | 99 | 102 | 215 | 249 | 248 | 320 | 320 | 217 | 129 | 134 | 32 | 103 | 217 | 108 | 322 | | | |
| | FRECUENCIA GENICA CONTEO DIRECTO | 1 | 0,31 | 0,32 | 0,67 | 0,77 | 0,77 | 0,99 | 0,99 | 0,67 | 0,4 | 0,42 | 0,1 | 0,32 | 0,67 | 0,34 | 1 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

■ Presencia
□ Ausencia

^a Haplotipo de referencia en paréntesis

Tabla 9. Compatibilidad según el modelo ligando – ligando de receptores KIR.

| | | DONANTE | | | | | | | | RECEPTOR | | | | | | | | |
|-----|--------------------|-----------|-------|--------|-------|----------|----------|------------------|--------|-----------|--------|-------|----------|----------|------------------|---------------------|--|-----------------------------------|
| | | GENES HLA | | | | | | | | GENES HLA | | | | | | | | Inc. KIR modelo ligando - ligando |
| D/R | Tipo de trasplante | HLA-A* | | HLA-B* | | HLA-C* | | Ligandos KIR | HLA-A* | | HLA-B* | | HLA-C* | | Ligandos KIR | | | |
| 1 | Haploid. | 26:01 | 34:XX | 07:02 | 38:01 | 07:02 | 12:03 | Bw4-80I C1C1 | 30:02 | 34:XX | 07:02 | 15:XX | 07:02 | 14:02 | C1C1 | ICH Bw4-80I | | |
| 2 | Haploid. | 29:XX | 24:XX | 53:XX | 35:XX | 04:01 | 04:01 | Bw4-80I C2C2 | 02:XX | 24:XX | 39:XX | 35:XX | 04:01 | 07:02 | Bw4 C1C2 | HCI C1 | | |
| 3 | Haploid. | 02:XX | 68:XX | 50:XX | 40:XX | 03:04/09 | 06:02 | C1C2 | 02:XX | 68:XX | 51:XX | 40:XX | 03:04/09 | 15:02 | Bw4-80I C1C2 | HCI Bw4-80I | | |
| 4 | Haploid. | 02:01 | 01:01 | 51:01 | 08:01 | 14:02 | 07:XX | Bw4-80I C1C1 | 01:01 | 01:01 | 37:01 | 08:01 | 06:02 | 07:XX | Bw4-80T C1C2 | ICH C2 | | |
| 5 | Haploid. | 30:XX | 24:XX | 58:XX | 40:XX | 03:05 | 07:01 | Bw4-80I C1C1 | 24:XX | 24:XX | 18:XX | 40:XX | 03:05 | 01:02 | Bw4 C1C1 | No | | |
| 15 | Haploid. | 11:01 | 03:01 | 40:01 | 07:02 | 03:02 | 07:02 | C1C1 | 24:02 | 03:01 | 51:01 | 07:02 | 15:02 | 07:02 | Bw4-80I C1C2 | HCI Bw4-80I C2 | | |
| 16 | Haploid. | 02:XX | 31:XX | 44:XX | 51:XX | 05:01 | 15:02 | Bw4-80T,80I C2C2 | 29:XX | 31:XX | 07:XX | 51:XX | 05:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C2 | HCI C1 | | |
| 17 | Haploid. | 24:XX | 02:XX | 40:XX | 55:XX | 03:03 | 03:05 | Bw4 C1C1 | 24:XX | 02:XX | 35:XX | 55:XX | 01:02 | 03:03 | Bw4 C1C1 | No | | |
| 18 | Haploid. | 26:XX | 33:XX | 53:XX | 51:XX | 12:03 | 15:02 | Bw4-80I C1C2 | 22:XX | 33:XX | 14:XX | 51:XX | 08:02 | 15:02 | Bw4-80I C1C2 | No | | |
| 19 | Haploid. | 03:01 | 33:01 | 35:01 | 44:03 | 04:01 | 04:01 | Bw4-80T C2C2 | 11:01 | 33:01 | 35:01 | 44:03 | 04:01 | 04:01 | Bw4-80T C2C2 | No | | |
| 20 | Haploid. | 02:01 | 68:02 | 15:17 | 14:02 | 07:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C1 | 02:01 | 03:01 | 15:17 | 08:01 | 07:01 | 07:01 | Bw4-80I C1C1 | No | | |
| 31 | Haploid. | 11:XX | 02:01 | 35:XX | 18:01 | 04:01 | 07:XX | C1C2 | 24:02 | 02:01 | 35:XX | 18:01 | 01:02 | 07:XX | Bw4 C1C1 | ICH C2, HCI Bw4 | | |
| 32 | Haploid. | 30:02 | 03:01 | 18:01 | 44:02 | 05:01 | 12:03 | Bw4-80T C1C2 | 26:01 | 03:01 | 38:01 | 44:02 | 12:03 | 12:03 | Bw4-80T,80I C1C1 | ICH C2 | | |
| 33 | Haploid. | 03:01 | 24:02 | 35:01 | 40:02 | 04:01 | 03:05/09 | Bw4 C1C2 | 24:02 | 24:02 | 40:02 | 40:02 | 03:05 | 03:05/09 | Bw4 C1C1 | ICH C2 | | |
| 34 | Haploid. | 03:XX | 02:XX | 07:XX | 40:XX | 04:01 | 07:02 | C1C2 | 03:XX | 02:XX | 07:XX | 40:XX | 03:02 | 07:02 | C1C1 | ICH C2 | | |
| 35 | Haploid. | 24:XX | 30:XX | 35:XX | 35:XX | 01:02 | 04:01 | Bw4 C1C2 | 02:XX | 02:XX | 35:XX | 48:XX | 01:02 | 08:01 | C1C1 | ICH C2 | | |
| 36 | Haploid. | 02:01 | 68:01 | 51:01 | 14:02 | 15:02 | 08:02 | Bw4-80I C1C2 | 02:01 | 68:01 | 08:01 | 14:02 | 07:01 | 08:02 | C1C1 | ICH Bw4 C2 | | |
| 37 | Haploid. | 31:XX | 30:XX | 35:XX | 50:XX | 01:02 | 06:02 | C1C2 | 30:XX | 30:XX | 42:XX | 50:XX | 06:02 | 17:01/03 | C2C2 | ICH C1 | | |
| 38 | Haploid. | 24:02 | 03:01 | 51:01 | 52:01 | 15:02 | 08:02 | Bw4-80I C1C2 | 24:02 | 11:01 | 51:01 | 35:01 | 15:02 | 04:01 | Bw4-80I C2C2 | ICH C1 | | |
| 39 | Haploid. | 02:XX | 68:XX | 44:XX | 49:XX | 05:01 | 07:01 | Bw4-80T,80I C1C2 | 02:XX | 02:XX | 44:XX | 40:XX | 04:01 | 05:01 | Bw4-80T C2C2 | ICH C1 | | |
| 40 | Haploid. | 03:01 | 03:01 | 49:01 | 51:01 | 07:01 | 15:02 | Bw4-80I C1C2 | 23:01 | 03:01 | 44:03 | 51:01 | 04:01 | 15:02 | Bw4-80T,80I C2C2 | ICH C1 | | |
| 41 | Haploid. | 02:11 | 30:02 | 40:04 | 35:01 | 03:04 | 04:01 | C1C2 | 02:01 | 30:02 | 44:02 | 35:01 | 05:01 | 04:01 | Bw4-80T C2C2 | ICH C1, HCI Bw4-80T | | |
| 42 | Haploid. | 02:XX | 31:XX | 58:XX | 40:XX | 01:10 | 07:01 | Bw4-80I C1C1 | 02:XX | 30:XX | 58:XX | 42:XX | 07:01 | 12:04 | Bw4-80I C1C2 | HCI C2 | | |
| 43 | Haploid. | 68:XX | 30:XX | 27:XX | 35:XX | 01:02 | 03:04 | Bw4-80T C1C1 | 68:XX | 30:XX | 44:XX | 35:XX | 03:04 | 05:01 | Bw4-80T C1C2 | HCI C2 | | |
| 44 | Haploid. | 24:XX | 23:XX | 15:XX | 49:XX | 07:01 | 07:02 | Bw4-80I C1C1 | 24:XX | 23:XX | 15:XX | 44:XX | 04:01 | 07:02 | Bw4-80T C1C2 | HCI C2 | | |
| 45 | Haploid. | 33:XX | 24:XX | 14:02 | 07:02 | 08:02 | 07:02 | Bw4 C1C1 | 24:XX | 24:XX | 51:01 | 07:02 | 15:02 | 07:02 | Bw4-80I C1C2 | HCI C2 | | |
| 46 | Haploid. | 26:01 | 23:01 | 14:01 | 41:01 | 08:04 | 08:02 | Bw4 C1C1 | 33:01 | 23:01 | 18:01 | 41:01 | 05:01 | 08:02 | Bw4 C1C2 | ICH C2 | | |
| 47 | Haploid. | 24:02 | 24:02 | 39:06 | 44:03 | 07:02 | 16:01 | Bw4-80T C1C1 | 03:01 | 24:02 | 07:05 | 44:03 | 15:05 | 16:01 | Bw4-80T C1C2 | HCI C2 | | |
| 48 | Haploid. | 29:02 | 80:01 | 15:03 | 44:03 | 02:02 | 04:01 | Bw4-80T C2C2 | 29:02 | 29:02 | 15:03 | 44:03 | 02:02 | 16:01 | Bw4-80T C1C2 | HCI C1 | | |
| 49 | Haploid. | 02:01 | 03:01 | 18:01 | 35:49 | 05:01 | 04:01 | C2C2 | 02:01 | 24:02 | 18:01 | 35:43 | 05:01 | 01:02 | Bw4 C1C2 | HCI C1 | | |
| 50 | Haploid. | 23:01 | 03:01 | 41:01 | 35:03 | 07:01 | 04:01 | Bw4 C1C2 | 02:01 | 03:01 | 39:08 | 35:03 | 07:02 | 04:01 | C1C2 | ICH Bw4 | | |
| 51 | Haploid. | 02:01 | 02:11 | 51:01 | 40:04 | 14:02 | 03:04 | Bw4-80I C1C1 | 68:01 | 02:11 | 39:06 | 40:04 | 07:02 | 03:04 | C1C1 | ICH Bw4-80I | | |
| 52 | Haploid. | 33:01 | 68:02 | 53:01 | 15:10 | 04:01 | 03:04 | Bw4-80I C1C2 | 68:02 | 68:02 | 42:02 | 15:10 | 17:03 | 03:04 | C1C2 | ICH Bw4-80I | | |
| 53 | Haploid. | 03:XX | 24:XX | 07:XX | 18:XX | 01:02 | 07:02 | Bw4 C1C1 | 02:XX | 24:XX | 51:XX | 18:XX | 01:02 | 01:02 | Bw4-80I C1C1 | HCI Bw4-80I | | |
| 54 | Haploid. | 23:01 | 24:02 | 44:03 | 40:XX | 04:01 | 03:05 | Bw4-80T C1C2 | 24:02 | 24:02 | 40:02 | 40:XX | 03:05 | 03:05 | Bw4 C1C1 | ICH C2 | | |
| 55 | Haploid. | 30:02 | 26:01 | 35:20 | 49:01 | 04:01 | 07:01 | Bw4-80I C1C2 | 03:01 | 26:01 | 18:01 | 49:01 | 07:01 | 07:01 | Bw4-80I C1C1 | ICH C2 | | |
| 56 | Haploid. | 68:01 | 02:01 | 15:01 | 35:49 | 03:03 | 04:01 | C1C2 | 29:02 | 02:01 | 44:03 | 35:49 | 16:01 | 04:01 | Bw4-80T C1C2 | HCI Bw4 | | |
| 57 | Haploid. | 30:02 | 25:01 | 39:10 | 15:01 | 12:03 | 03:03 | C1C1 | 30:02 | 30:02 | 39:10 | 27:03 | 12:03 | 01:02 | Bw4-80T C1C1 | HCI Bw4 | | |

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----------|-------|-------|-------|-------|----------|----------|------------------|-------|-------|-------|-------|----------|----------|------------------|-------------|
| 58 | Haploid. | 33:01 | 32:01 | 58:01 | 15:01 | 03:02 | 03:03 | Bw4-80I C1C1 | 11:01 | 32:01 | 51:01 | 15:01 | 16:02 | 03:03 | Bw4-80I C1C1 | HCI C2 |
| 59 | Haploid. | 24:02 | 23:01 | 58:02 | 44:03 | 06:02 | 04:01 | Bw4-80T,80I C2C2 | 24:02 | 68:01 | 58:02 | 15:17 | 06:02 | 07:01 | Bw4-80I C1C2 | HCI C1 |
| 60 | Haploid. | 31:12 | 24:14 | 35:43 | 40:02 | 01:02 | 03:04/09 | C1C1 | 31:12 | 26:01 | 35:43 | 38:01 | 01:02 | 12:03 | Bw4-80I C1C1 | HCI Bw4-80I |
| 61 | Haploid. | 23:01 | 30:02 | 53:01 | 15:03 | 06:02 | 02:10 | Bw4-80I C1C1 | 23:01 | 30:02 | 45:01 | 15:03 | 16:01 | 02:10 | Bw4 C1C2 | HCI C1 |
| 62 | Haploid. | 02:13 | 24:02 | 51:01 | 35:02 | 15:02 | 04:01 | Bw4-80I C2C2 | 02:13 | 03:01 | 51:01 | 07:02 | 15:02 | 07:02 | Bw4-80I C1C2 | HCI C1 |
| 63 | Haploid. | 26:01 | 68:01 | 38:01 | 39:01 | 12:03 | 07:02 | Bw4-80I C1C1 | 24:14 | 68:01 | 40:02 | 39:01 | 03:04 | 07:02 | Bw4 C1C1 | ICH Bw4-80I |
| 64 | Haploid. | 02:XX | 24:XX | 35:XX | 40:XX | 03:05 | 08:01 | Bw4 C1C1 | 02:XX | 24:XX | 35:XX | 40:XX | 04:01 | 08:01 | Bw4 C1C2 | HCI C2 |
| 65 | Haploid. | 33:XX | 24:XX | 14:XX | 40:XX | 03:04 | 08:02 | Bw4 C1C1 | 33:XX | 24:XX | 15:XX | 40:XX | 03:04 | 16:01 | Bw4 C1C1 | No |
| 66 | Haploid. | 02:13 | 33:03 | 51:01 | 14:02 | 08:02 | 15:02 | Bw4-80I C1C2 | 02:13 | 33:03 | 51:01 | 14:02 | 15:XX | 08:02 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 67 | Haploid. | 24:XX | 01:XX | 40:XX | 35:XX | 01:02 | 04:01 | Bw4 C1C2 | 24:XX | 03:XX | 40:XX | 35:XX | 01:03 | 04:01 | Bw4 C1C2 | No |
| 68 | Haploid. | 24:XX | 25:XX | 27:XX | 15:XX | 01:02 | 03:03 | Bw4-80T C1C1 | 24:XX | 29:XX | 27:XX | 44:XX | 01:02 | 16:01 | Bw4-80T C1C1 | No |
| 69 | Haploid. | 24:XX | 24:XX | 15:XX | 07:XX | 01:02 | 07:02 | Bw4 C1C1 | 26:XX | 24:XX | 38:XX | 07:XX | 07:02 | 12:02 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 70 | Haploid. | 02:XX | 03:XX | 39:XX | 07:XX | 07:02 | 15:05 | C1C2 | 02:XX | 30:XX | 39:XX | 35:XX | 04:01 | 07:02 | C1C2 | No |
| 71 | Haploid. | 02:XX | 68:XX | 53:XX | 15:XX | 03:04 | 04:01 | Bw4-80I C1C2 | 02:XX | 32:XX | 53:XX | 14:XX | 04:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 72 | Haploid. | 02:XX | 03:XX | 40:XX | 14:XX | 08:01 | 08:01 | C1C1 | 02:XX | 11:XX | 40:XX | 40:XX | 03:02 | 08:01 | C1C1 | No |
| 73 | Haploid. | 03:XX | 03:XX | 35:XX | 51:XX | 07:XX | 04:XX | Bw4-80I C1C2 | 03:XX | 24:XX | 35:XX | 08:XX | 07:XX | 04:XX | Bw4 C1C2 | No |
| 74 | Haploid. | 02:XX | 68:XX | 53:XX | 53:XX | 04:01 | 04:01 | Bw4-80I C2C2 | 02:XX | 34:XX | 53:XX | 44:XX | 04:01 | 04:01 | Bw4-80T,80I C2C2 | No |
| 75 | Haploid. | 02:01 | 24:02 | 39:01 | 15:01 | 07:02 | 01:02 | Bw4 C1C1 | 02:01 | 24:02 | 39:01 | 51:01 | 07:02 | 16:01 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 76 | Haploid. | 25:01 | 24:02 | 49:01 | 27:XX | 07:01 | 02:02 | Bw4-80T,80I C1C2 | 23:01 | 24:02 | 40:02 | 27:XX | 03:XX | 02:02 | Bw4-80T C1C2 | No |
| 77 | Haploid. | 02:XX | 02:XX | 51:01 | 44:02 | 15:02 | 05:01 | Bw4-80T,80I C2C2 | 02:XX | 31:XX | 51:01 | 35:05 | 15:02 | 04:01 | Bw4-80I C2C2 | No |
| 78 | Haploid. | 02:01 | 02:05 | 49:01 | 14:02 | 07:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C1 | 01:01 | 02:05 | 58:01 | 14:02 | 07:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 79 | Haploid. | 26:01 | 29:02 | 57:01 | 35:01 | 18:01 | 04:01 | Bw4-80I C2C2 | 01:01 | 29:02 | 44:02 | 35:01 | 05:01 | 04:01 | Bw4-80T C2C2 | No |
| 80 | Haploid. | 01:01 | 24:02 | 35:02 | 35:43 | 04:01 | 01:02 | Bw4 C1C2 | 01:01 | 24:02 | 35:02 | 40:02 | 04:01 | 03:05 | Bw4 C1C2 | No |
| 81 | Haploid. | 11:01 | 30:01 | 52:01 | 42:01 | 12:02 | 17:01/03 | Bw4-80I C1C2 | 02:01 | 30:01 | 44:03 | 42:01 | 03:03 | 17:01/03 | Bw4-80T C1C2 | No |
| 82 | Haploid. | 02:02 | 23:01 | 08:01 | 42:01 | 03:04/09 | 17:01/03 | Bw4 C1C2 | 02:11 | 23:01 | 40:04 | 42:01 | 03:04/09 | 17:01/03 | Bw4 C1C2 | No |
| 83 | Haploid. | 23:01 | 68:02 | 49:01 | 14:02 | 07:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C1 | 23:01 | 23:01 | 49:01 | 49:01 | 07:01 | 07:01 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 84 | Haploid. | 23:01 | 31:01 | 14:01 | 40:02 | 08:02 | 01:10 | Bw4 C1C1 | 23:01 | 31:01 | 14:01 | 44:03 | 08:02 | 16:01 | Bw4-80T C1C1 | No |
| 85 | Haploid. | 24:02 | 31:01 | 45:01 | 40:01 | 16:01 | 03:04/09 | Bw4 C1C1 | 24:02 | 23:01 | 45:01 | 07:02 | 16:01 | 07:02 | Bw4 C1C1 | No |
| 86 | Haploid. | 29:02 | 68:01 | 44:03 | 35:31 | 16:01 | 03:04/09 | Bw4-80T C1C1 | 29:02 | 02:01 | 44:03 | 08:01 | 16:01 | 07:01 | Bw4-80T C1C1 | No |
| 87 | Haploid. | 31:01 | 24:02 | 35:43 | 38:01 | 01:02 | 12:03 | Bw4-80I C1C1 | 02:01 | 24:02 | 51:01 | 38:01 | 16:01 | 12:03 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 88 | Haploid. | 01:01 | 23:01 | 56:01 | 44:03 | 07:01 | 04:01 | Bw4-80T C1C2 | 03:01 | 23:01 | 14:02 | 44:03 | 08:02 | 04:01 | Bw4-80T C1C2 | No |
| 89 | Haploid. | 03:01 | 34:02 | 07:02 | 44:03 | 04:01 | 07:02 | Bw4-80T C1C2 | 03:01 | 68:02 | 07:02 | 53:01 | 04:01 | 07:02 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 90 | Haploid. | 24:XX | 02:XX | 35:XX | 35:XX | 01:02 | 03:04 | C1C1 | 24:XX | 02:XX | 35:XX | 35:XX | 03:03 | 03:04 | C1C1 | No |

D/R; Parejas de donante/receptor, ordenadas de acuerdo a los modelos de compatibilidad según los receptores tipo KIR.

0: Ausencia 1: Presencia

Tabla 10. Compatibilidad según el modelo ligando – receptor KIR.

| D/R | Tipo de trasplante | DONANTE | | | | | | | | | | | | | | RECEPTOR | | | | | Inc. KIR modelo ligando - receptor | | | | | |
|-----|--------------------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----------|------|---------------|--------|--------|------------------------------------|--------|--------------|----------|------------------|-------------------------------|
| | | GENES KIR | | | | | | | | | | | | | | GENES HLA | | | | | | | | | | |
| | | 2DL1 | 2DL2 | 2DL3 | 2DL4 | 2DL5 | 2DS1 | 2DS2 | 2DS3 | 2DS4 | 2DS5 | 3DL1 | 3DS1 | 3DL2 | 3DL3 | 2DP1 | 3DP1 | Haplotype KIR | HLA-A* | HLA-B* | | HLA-C* | Ligandos KIR | | | |
| 1 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AA | 30:02 | 34:XX | 07:02 | 15:XX | 07:02 | 14:02 | C1C1 | KIR3DL1D/Bw4-R |
| 2 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AA | 02:XX | 24:XX | 39:XX | 35:XX | 04:01 | 07:02 | Bw4 C1C2 | No |
| 3 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AA | 02:XX | 68:XX | 51:XX | 40:XX | 03:04/09 | 15:02 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 4 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AA | 01:01 | 01:01 | 37:01 | 08:01 | 06:02 | 07:XX | Bw4-80T C1C2 | No |
| 5 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AA | 24:XX | 24:XX | 18:XX | 40:XX | 03:05 | 01:02 | Bw4 C1C1 | No |
| 15 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:02 | 03:01 | 51:01 | 07:02 | 15:02 | 07:02 | Bw4-80I C1C2 | KIR2DS1D/C2+R |
| 16 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 29:XX | 31:XX | 07:XX | 51:XX | 05:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C2 | KIR2DS2D/C1+R |
| 17 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:XX | 02:XX | 35:XX | 55:XX | 01:02 | 03:03 | Bw4 C1C1 | No |
| 18 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 22:XX | 33:XX | 14:XX | 51:XX | 08:02 | 15:02 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 19 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 11:01 | 33:01 | 35:01 | 44:03 | 04:01 | 04:01 | Bw4-80T C2C2 | No |
| 20 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:01 | 03:01 | 15:17 | 08:01 | 07:01 | 07:01 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 31 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:02 | 02:01 | 35:XX | 18:01 | 01:02 | 07:XX | Bw4 C1C1 | KIR2DL1D/C2-R |
| 32 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 26:01 | 03:01 | 38:01 | 44:02 | 12:03 | 12:03 | Bw4-80T,80I C1C1 | KIR2DL1D/C2-R |
| 33 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 24:02 | 24:02 | 40:02 | 40:02 | 03:05 | 03:05/09 | Bw4 C1C1 | KIR2DL1D/C2-R |
| 34 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 03:XX | 02:XX | 07:XX | 40:XX | 03:02 | 07:02 | C1C1 | KIR2DL1D/C2-R |
| 35 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:XX | 02:XX | 35:XX | 48:XX | 01:02 | 08:01 | C1C1 | KIR2DL1D/C2-R, KIR3DL1D/Bw4-R |
| 36 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:01 | 68:01 | 08:01 | 14:02 | 07:01 | 08:02 | C1C1 | KIR2DL1D/C2-R, KIR3DL1D/Bw4-R |
| 37 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 30:XX | 30:XX | 42:XX | 50:XX | 06:02 | 17:01/03 | C2C2 | KIR2DL2/3D/C1-R |
| 38 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 24:02 | 11:01 | 51:01 | 35:01 | 15:02 | 04:01 | Bw4-80I C2C2 | KIR2DL2/3D/C1-R |
| 39 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 02:XX | 02:XX | 44:XX | 40:XX | 04:01 | 05:01 | Bw4-80T C2C2 | KIR2DL2/3D/C1-R |
| 40 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 23:01 | 03:01 | 44:03 | 51:01 | 04:01 | 15:02 | Bw4-80T,80I C2C2 | KIR2DL2/3D/C1-R |
| 41 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:01 | 30:02 | 44:02 | 35:01 | 05:01 | 04:01 | Bw4-80T C2C2 | KIR2DL3D/C1-R |
| 42 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:XX | 30:XX | 58:XX | 42:XX | 07:01 | 12:04 | Bw4-80I C1C2 | KIR2DS1D/C2+R |
| 43 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 68:XX | 30:XX | 44:XX | 35:XX | 03:04 | 05:01 | Bw4-80T C1C2 | KIR2DS1D/C2+R |
| 44 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:XX | 23:XX | 15:XX | 44:XX | 04:01 | 07:02 | Bw4-80T C1C2 | KIR2DS1D/C2+R |
| 45 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:XX | 24:XX | 51:01 | 07:02 | 15:02 | 07:02 | Bw4-80I C1C2 | KIR2DS1D/C2+R |
| 46 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 33:01 | 23:01 | 18:01 | 41:01 | 05:01 | 08:02 | Bw4 C1C2 | KIR2DS1D/C2+R |
| 47 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 03:01 | 24:02 | 07:05 | 44:03 | 15:05 | 16:01 | Bw4-80T C1C2 | KIR2DS1D/C2+R |
| 48 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 29:02 | 29:02 | 15:03 | 44:03 | 02:02 | 16:01 | Bw4-80T C1C2 | KIR2DS2D/C1+R |
| 49 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:01 | 24:02 | 18:01 | 35:43 | 05:01 | 01:02 | Bw4 C1C2 | KIR2DS2D/C1+R |
| 50 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:01 | 03:01 | 39:08 | 35:03 | 07:02 | 04:01 | C1C2 | KIR3DL1D/Bw4-R |
| 51 | Haploid. | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | BB | 68:01 | 02:11 | 39:06 | 40:04 | 07:02 | 03:04 | C1C1 | KIR3DL1D/Bw4-R | |
| 52 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 68:02 | 68:02 | 42:02 | 15:10 | 17:03 | 03:04 | C1C2 | KIR3DL1D/Bw4-R |
| 53 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:XX | 24:XX | 51:XX | 18:XX | 01:02 | 01:02 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 54 | Haploid. | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | BB | 24:02 | 24:02 | 40:02 | 40:XX | 03:05 | 03:05 | Bw4 C1C1 | No |
| 55 | Haploid. | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | BB | 03:01 | 26:01 | 18:01 | 49:01 | 07:01 | 07:01 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 56 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 29:02 | 02:01 | 44:03 | 35:49 | 16:01 | 04:01 | Bw4-80T C1C2 | No |
| 57 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 30:02 | 30:02 | 39:10 | 27:03 | 12:03 | 01:02 | Bw4-80T C1C1 | No |
| 58 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 11:01 | 32:01 | 51:01 | 15:01 | 16:02 | 03:03 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 59 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:02 | 68:01 | 58:02 | 15:17 | 06:02 | 07:01 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 60 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 31:12 | 26:01 | 35:43 | 38:01 | 01:02 | 12:03 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 61 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 23:01 | 30:02 | 45:01 | 15:03 | 16:01 | 02:10 | Bw4 C1C2 | No |
| 62 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 02:13 | 03:01 | 51:01 | 07:02 | 15:02 | 07:02 | Bw4-80I C1C2 | No |

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|-------|-------|-------|-------|-------|----------|----------|------------------|----|
| 63 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 24:14 | 68:01 | 40:02 | 39:01 | 03:04 | 07:02 | Bw4 C1C1 | No |
| 64 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:XX | 24:XX | 35:XX | 40:XX | 04:01 | 08:01 | Bw4 C1C2 | No |
| 65 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AA | 33:XX | 24:XX | 15:XX | 40:XX | 03:04 | 16:01 | Bw4 C1C1 | No |
| 66 | Haploid. | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 02:13 | 33:03 | 51:01 | 14:02 | 15:XX | 08:02 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 67 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:XX | 03:XX | 40:XX | 35:XX | 01:03 | 04:01 | Bw4 C1C2 | No |
| 68 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:XX | 29:XX | 27:XX | 44:XX | 01:02 | 16:01 | Bw4-80T C1C1 | No |
| 69 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 26:XX | 24:XX | 38:XX | 07:XX | 07:02 | 12:02 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 70 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:XX | 30:XX | 39:XX | 35:XX | 04:01 | 07:02 | C1C2 | No |
| 71 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:XX | 32:XX | 53:XX | 14:XX | 04:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 72 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 02:XX | 11:XX | 40:XX | 40:XX | 03:02 | 08:01 | C1C1 | No |
| 73 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 03:XX | 24:XX | 35:XX | 08:XX | 07:XX | 04:XX | Bw4 C1C2 | No |
| 74 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 02:XX | 34:XX | 53:XX | 44:XX | 04:01 | 04:01 | Bw4-80T,80I C2C2 | No |
| 75 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:01 | 24:02 | 39:01 | 51:01 | 07:02 | 16:01 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 76 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 23:01 | 24:02 | 40:02 | 27:XX | 03:XX | 02:02 | Bw4-80T C1C2 | No |
| 77 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:XX | 31:XX | 51:01 | 35:05 | 15:02 | 04:01 | Bw4-80I C2C2 | No |
| 78 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 01:01 | 02:05 | 58:01 | 14:02 | 07:01 | 08:02 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 79 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 01:01 | 29:02 | 44:02 | 35:01 | 05:01 | 04:01 | Bw4-80T C2C2 | No |
| 80 | Haploid. | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | BB | 01:01 | 24:02 | 35:02 | 40:02 | 04:01 | 03:05 | Bw4 C1C2 | No | |
| 81 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:01 | 30:01 | 44:03 | 42:01 | 03:03 | 17:01/03 | Bw4-80T C1C2 | No |
| 82 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 02:11 | 23:01 | 40:04 | 42:01 | 03:04/09 | 17:01/03 | Bw4 C1C2 | No |
| 83 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 23:01 | 23:01 | 49:01 | 49:01 | 07:01 | 07:01 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 84 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 23:01 | 31:01 | 14:01 | 44:03 | 08:02 | 16:01 | Bw4-80T C1C1 | No |
| 85 | Haploid. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 24:02 | 23:01 | 45:01 | 07:02 | 16:01 | 07:02 | Bw4 C1C1 | No |
| 86 | Haploid. | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | BB | 29:02 | 02:01 | 44:03 | 08:01 | 16:01 | 07:01 | Bw4-80T C1C1 | No |
| 87 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 02:01 | 24:02 | 51:01 | 38:01 | 16:01 | 12:03 | Bw4-80I C1C1 | No |
| 88 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 03:01 | 23:01 | 14:02 | 44:03 | 08:02 | 04:01 | Bw4-80T C1C2 | No |
| 89 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 03:01 | 68:02 | 07:02 | 53:01 | 04:01 | 07:02 | Bw4-80I C1C2 | No |
| 90 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 24:XX | 02:XX | 35:XX | 35:XX | 03:03 | 03:04 | C1C1 | No |

D/R; Parejas de donante/receptor, ordenadas de acuerdo a los modelos de compatibilidad según los receptores tipo KIR.

0: Ausencia 1: Presencia

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|----------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|
| 149 | Id. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 150 | Id. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 151 | Id. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 152 | Id. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 153 | Id. | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 154 | Id. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | No |
| 155 | Id. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 156 | Id. | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 157 | Id. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | No |
| 158 | Id. | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 159 | Id. | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | BB | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 160 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | AB | No |
| 161 | Haploid. | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | BB | No |

D/R; Parejas de donante/receptor, ordenadas de acuerdo a los modelos de compatibilidad según los receptores tipo KIR.

0: Ausencia 1: Presencia

Tabla 12. Resumen compatibilidad según los receptores tipo KIR basados en los modelos de alorreactividad de células NK.

| D/R | Tipo de trasplante | INC. SEGÚN MODELOS ALORREACTIVIDAD CÉLULAS NK | | |
|-----|--------------------|---|------------------------------------|-------------------------|
| | | Inc. KIR modelo ligando - ligando | Inc. KIR modelo ligando - receptor | Inc. KIR modelo gen-gen |
| 1 | Haploid. | ICH Bw4-80I | KIR3DL1D/Bw4-R | Don AA / Rec AB |
| 2 | Haploid. | HCI C1 | No | Don AA / Rec AB |
| 3 | Haploid. | HCI Bw4-80I | No | Don AA / Rec AB |
| 4 | Haploid. | ICH C2 | No | Don AA / Rec AB |
| 5 | Haploid. | No | No | Don AA / Rec AB |
| 6 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 7 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 8 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 9 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 10 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 11 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 12 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 13 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 14 | Id. | N.A | N.A | Don AA / Rec AB |
| 15 | Haploid. | HCI Bw4-80I C2 | KIR2DS1D/C2+R | Don AB / Rec AA |
| 16 | Haploid. | HCI C1 | KIR2DS2D/C1+R | Don AB / Rec AA |
| 17 | Haploid. | No | No | Don AB / Rec AA |
| 18 | Haploid. | No | No | Don AB / Rec AA |
| 19 | Haploid. | No | No | Don AB / Rec AA |
| 20 | Haploid. | No | No | Don AB / Rec AA |
| 21 | Id. | N.A | N.A | Don BB / Rec AA |
| 22 | Id. | N.A | N.A | Don AB / Rec AA |
| 23 | Id. | N.A | N.A | Don AB / Rec AA |
| 24 | Id. | N.A | N.A | Don BB / Rec AA |
| 25 | Id. | N.A | N.A | Don AB / Rec AA |
| 26 | Id. | N.A | N.A | Don BB / Rec AA |
| 27 | Id. | N.A | N.A | Don AB / Rec AA |
| 28 | Id. | N.A | N.A | Don AB / Rec AA |
| 29 | Id. | N.A | N.A | Don BB / Rec AA |
| 30 | Id. | N.A | N.A | Don BB / Rec AA |
| 31 | Haploid. | ICH C2, HCI Bw4 | KIR2DL1D/C2-R | No |
| 32 | Haploid. | ICH C2 | KIR2DL1D/C2-R | No |
| 33 | Haploid. | ICH C2 | KIR2DL1D/C2-R | No |
| 34 | Haploid. | ICH C2 | KIR2DL1D/C2-R | No |
| 35 | Haploid. | ICH C2 | KIR2DL1D/C2-R, KIR3DL1D/Bw4-R | No |
| 36 | Haploid. | ICH Bw4 C2 | KIR2DL1D/C2-R, KIR3DL1D/Bw4-R | No |
| 37 | Haploid. | ICH C1 | KIR2DL2/3D/C1-R | No |
| 38 | Haploid. | ICH C1 | KIR2DL2/3D/C1-R | No |
| 39 | Haploid. | ICH C1 | KIR2DL2/3D/C1-R | No |
| 40 | Haploid. | ICH C1 | KIR2DL2/3D/C1-R | No |
| 41 | Haploid. | ICH C1, HCI Bw4-80T | KIR2DL3D/C1-R | No |
| 42 | Haploid. | HCI C2 | KIR2DS1D/C2+R | No |
| 43 | Haploid. | HCI C2 | KIR2DS1D/C2+R | No |
| 44 | Haploid. | HCI C2 | KIR2DS1D/C2+R | No |
| 45 | Haploid. | HCI C2 | KIR2DS1D/C2+R | No |
| 46 | Haploid. | ICH C2 | KIR2DS1D/C2+R | No |
| 47 | Haploid. | HCI C2 | KIR2DS1D/C2+R | No |
| 48 | Haploid. | HCI C1 | KIR2DS2D/C1+R | No |
| 49 | Haploid. | HCI C1 | KIR2DS2D/C1+R | No |
| 50 | Haploid. | ICH Bw4 | KIR3DL1D/Bw4-R | No |
| 51 | Haploid. | ICH Bw4-80I | KIR3DL1D/Bw4-R | No |
| 52 | Haploid. | ICH Bw4-80I | KIR3DL1D/Bw4-R | No |
| 53 | Haploid. | HCI Bw4-80I | No | No |
| 54 | Haploid. | ICH C2 | No | No |
| 55 | Haploid. | ICH C2 | No | No |
| 56 | Haploid. | HCI Bw4 | No | No |
| 57 | Haploid. | HCI Bw4 | No | No |
| 58 | Haploid. | HCI C2 | No | No |
| 59 | Haploid. | HCI C1 | No | No |
| 60 | Haploid. | HCI Bw4-80I | No | No |
| 61 | Haploid. | HCI C1 | No | No |
| 62 | Haploid. | HCI C1 | No | No |
| 63 | Haploid. | ICH Bw4-80I | No | No |
| 64 | Haploid. | HCI C2 | No | No |

Tabla 13. Resumen resultados del análisis bivariado – método de Kaplan Meier.

| Pacientes de TCMH con donante idéntico | Desenlaces | | | | | |
|--|----------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|----------------------------|---------|
| | Supervivencia global | Supervivencia libre de enfermedad | Mortalidad no relacionada a recaída | Incidencia de EICH aguda | Incidencia de EICH crónica | Recaída |
| Pacientes con EICH aguda | ↓ | | ↑ | - | - | - |
| Pacientes sin EICH crónica | ↓ | ↓ | ↑ | - | - | - |
| Pacientes con recaída | ↓ | | | - | - | - |
| Donantes con gen KIR3DS1 | ↓ | ↓ | ↑ | | | |
| Donantes con gen KIR2DS1 | | | ↑ | ↓ | | |
| Donantes con gen KIR2DS5 | | | ↑ | ↓ | | |
| Donantes con gen KIR2DL5 | | | | | ↓ | |
| Incompatibilidad grupo sanguíneo | | | ↑ | | | |
| Haplotipo B/x donante | | | | ↓ | | |
| Receptores de TCMH con donante haploidéntico | | | | | | |
| Pacientes entre 41 - 57 años | ↓ | | ↑ | | | |
| Pacientes trasplantados con donantes mujeres | ↓ | ↓ | | | | |
| Pacientes mujeres trasplantados con donantes hombres | ↓ | ↓ | ↑ | | | |
| Pacientes con leucemias crónicas | | | | | ↑ | |
| Pacientes con mielofibrosis | ↓ | ↓ | ↑ | | | |
| Pacientes con gen KIR2DL5 | ↓ | ↓ | | | | |
| Pacientes con gen KIR2DS1 | | | | | ↓ | |
| Donantes con gen KIR2DL5 | | | | | ↓ | |
| Donantes con gen KIR2DS1 | | | | | ↓ | |
| Haplotipo AA paciente | | | | ↓ | | |
| Compatibilidad según modelo gen - gen | ↓ | ↓ | | ↑ | | |

Tabla 14. Modelo de riesgos proporcionales de Cox de los eventos supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y mortalidad no relacionada de receptores de TCMH con donante idéntico

| Variable | Efecto | Supervivencia Global ^a | | Supervivencia libre de enfermedad ^b | | Mortalidad no relacionada ^c | |
|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|---------------|--|---------------|--|---------------|
| | | HR (IC 95%) | p | HR (IC 95%) | p | HR (IC 95%) | p |
| Modelo de compatibilidad gen – gen | Incompatible vs Compatible | 0,97 (0,3 - 3,11) | 0,9 | 0,42 (0,16 - 1,07) | 0,06 | 0,58 (0,15 - 2,22) | 0,42 |
| Haplotipo KIR donante más KIR3DS1 | KIR3DS1 presente vs KIR3DS1 ausente | 3,25 (1,39 - 7,58) | 0,007* | 2,76 (1,22 - 6,25) | 0,015* | 2,64 (1,02 - 6,82) | 0,045* |

HR: Hazard Ratio; *p<0,05.

a. Ajustado por las variables: edad del receptor, haplotipo KIR receptor, EICH aguda y recaída.

b. Ajustado por las variables edad del receptor, haplotipo KIR receptor y relación del trasplante según género.

c. Ajustado por la variable haplotipo KIR receptor.

Tabla 15. Modelo de riesgos proporcionales de Cox de los eventos supervivencia global, supervivencia libre de enfermedad y mortalidad no relacionada de receptores de TCMH con donante haploidéntico

| Variable | Efecto | Supervivencia Global ^a | | Supervivencia libre de enfermedad ^b | | Mortalidad no relacionada ^c | |
|---|----------------------------|-----------------------------------|---------------|--|---------------|--|--------------|
| | | HR (IC 95%) | p | HR (IC 95%) | p | HR (IC 95%) | p |
| Modelo de compatibilidad gen – gen | Incompatible vs Compatible | 0,23 (0,06 - 0,82) | 0,024* | 0,23 (0,06 - 0,82) | 0,024* | 0,21 (0,04 - 1,13) | 0,07 |
| Modelo de compatibilidad ligando - ligando | Incompatible vs Compatible | 0,94 (0,32 - 2,74) | 0,91 | 1,41 (0,43 - 4,66) | 0,57 | 1,47 (0,37 - 5,78) | 0,58 |
| Modelo de compatibilidad ligando - receptor | Incompatible vs Compatible | 1,87 (0,62 - 5,66) | 0,27 | 1,72 (0,55 - 5,35) | 0,35 | 2,39 (0,84 - 6,8) | 0,1 |
| Genero del donante | Hombre vs Mujer | 0,34 (0,15 - 0,81) | 0,014* | 0,36 (0,15 - 0,83) | 0,016* | 0,27 (0,08 - 0,87) | 0,03* |

HR: Hazard Ratio; *p<0,05.

a. Ajustado por las variables: enfermedad original, número de incompatibilidades HLA, fuente de células hematopoyéticas.

b. Ajustado por las variables: enfermedad original, edad del receptor, número de incompatibilidades HLA, fuente de células hematopoyéticas.

c. Ajustado por las variables: enfermedad original, edad del receptor y número de incompatibilidades HLA.

Tabla 16. Modelo de riesgos competitivos para los eventos EICH aguda, EICH crónica y recaída de receptores de TCMH con donante idéntico

| Variable | Efecto | EICH aguda ^a | | EICH crónica ^b | | Recaída ^c | |
|------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------|---------------------------|------|---------------------------|--------------|
| | | sHR (IC 95%) | p | sHR (IC 95%) | p | sHR (IC 95%) | p |
| Modelo de compatibilidad gen – gen | Incompatible vs Compatible | 0,58 (0,14 - 2,39) | 0,45 | 0,82 (0,36 - 1,87) | 0,64 | 0,22 (0,05 - 0,92) | 0,04* |
| Haplotipo KIR donante más KIR3DS1 | KIR3DS1 presente vs KIR3DS1 ausente | 0,03 (0,003 - 0,28) | 0,002* | 0,65 (0,18 - 2,29) | 0,5 | 1,69 (0,54 - 5,32) | 0,37 |
| Haplotipo KIR donante más KIR2DS1 | KIR2DS1 presente vs KIR2DS1 ausente | 0,08 (0,01 - 0,83) | 0,034* | 0,78 (0,28 - 2,18) | 0,64 | 0,55 (0,17 - 1,79) | 0,32 |
| Estatus serológico CMV | Donante - Receptor - vs Receptor + | 3,9 (1,56 - 9,8) | 0,004* | - | - | - | - |
| Haplotipo KIR donante más KIR2DL2 | KIR2DL2 presente vs KIR2DL2 ausente | - | - | - | - | 0,32 (0,11 - 0,94) | 0,04* |

sHR: sub-Hazard Ratio; *p<0,05.

a. Ajustado por las variables: relación del trasplante según género y haplotipo KIR receptor.

b. Ajustado por la variable relación del trasplante según género.

c. Ajustado por las variables: edad del receptor y relación del trasplante según género.

Tabla 17. Modelo de riesgos competitivos para los eventos EICH aguda, EICH crónica y recaída de receptores de TCMH con donante haploidéntico

| Variable | Efecto | EICH aguda ^a | | EICH crónica ^b | | Recaída ^c | |
|---|-------------------------------------|---------------------------|--------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|
| | | sHR (IC 95%) | p | sHR (IC 95%) | p | sHR (IC 95%) | p |
| Modelo de compatibilidad gen – gen | Incompatible vs Compatible | 0,27 (0,07 - 0,98) | 0,05* | 0,24 (0,04 - 1,44) | 0,12 | 0,4 (0,07 - 2,19) | 0,29 |
| Modelo de compatibilidad ligando – ligando | Incompatible vs Compatible | 1,13 (0,57 - 2,26) | 0,72 | 3,3 (0,89 - 12,07) | 0,07 | 1,25 (0,29 - 5,48) | 0,76 |
| Modelo de compatibilidad ligando – receptor | Incompatible vs Compatible | 0,58 (0,29 - 1,2) | 0,14 | 1,81 (0,58 - 5,63) | 0,3 | 1,47 (0,3 - 7,24) | 0,63 |
| Haplotipo KIR donante más KIR2DS1 | KIR2DS1 presente vs KIR2DS1 ausente | - | - | 0,29 (0,11 - 0,77) | 0,013* | - | - |
| Haplotipo KIR donante más KIR2DL5 | KIR2DL5 presente vs KIR2DL5 ausente | - | - | 0,18 (0,08 - 0,42) | <0,001* | - | - |
| Género del donante | Hombre vs Mujer | - | - | 1,13 (0,5 - 2,24) | 0,73 | - | - |
| Comorbilidades | Comorbilidad vs No comorbilidad | - | - | - | - | 2,11 (1,26 - 3,54) | <0,001* |

sHR: sub-Hazard Ratio; *p<0,05.

a. Ajustado por las variables: haplotipo KIR receptor, haplotipo KIR donante y estatus serológico de CMV.

b. Ajustado por la variable enfermedad original.

c. Ajustado por la variable edad del donante.

BIBLIOGRAFÍA

1. Soiffer RJ. Hematopoietic Stem Cell Transplantation. 2da ed. Boston, MA: Humana Press; 2008
2. Park BG, Park CJ, Jang S, Chi HS, Kim DY, Lee JH, et al. Reconstitution of lymphocyte subpopulations after hematopoietic stem cell transplantation: comparison of hematologic malignancies and donor types in event-free patients. *Leuk Res.* 2015 Dec;39(12):1334-41.
3. Korbling, M, Anderlini, P. Peripheral blood stem cell versus bone marrow allotransplantation: does the source of hematopoietic stem cells matter? *Blood*, 2001; 98: 2900–2908.
4. Munshi PN, Rowley SD, Korngold R. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Malignant Diseases. En: Rich RR, Fleisher, TA, Shearer WT, Schroeder HW, Frew AJ, Weyand CM. *Clinical Immunology. Principles and Practice*. 5ta ed. Elsevier; 2019. p. 1129-1139.
5. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, et al. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood*, 2002; 99(11): 4200–4206.
6. Petersdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, Woolfrey A, Malkki M, Gooley T, et al., “Major histocompatibility- complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation,” *New England Journal of Medicine*, 2001; 345 (25): 1794–1800.
7. Notarangelo LD, Pai SY. Immune reconstitution therapy for immunodeficiency. En: Rich RR, Fleisher, TA, Shearer WT, Schroeder HW, Frew AJ, Weyand CM. *Clinical Immunology. Principles and Practice*. 5ta ed. Elsevier; 2019. p. 1115-1127.
8. Rocha V, Locatelli F. Searching for alternative hematopoietic stem cell donors for pediatric patients. *Bone Marrow Transplant*. 2008 Jan;41(2):207-14.
9. Blazar BR, Murphy WJ, Abedi M. Advances in graft-versus-host disease biology and therapy. *Nat Rev Immunol*. 2012 May 11;12(6):443-58
10. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet*. 2009 May 2;373(9674):1550-61.
11. Justiz Vaillant AA, Mohammadi O. Graft Versus Host Disease. StatPearls Publishing [Internet]. [Actualizado 25 nov 2019, citado 03 mar 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538235/?report=classic>.
12. Jenq RR, van den Brink MR. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation: individualized stem cell and immune therapy of cancer. *Nat Rev Cancer*. 2010 Mar;10(3):213-21
13. Penack O, Holler E, van den Brink MR. Graft versus host disease: regulation by microbe-associated molecules and innate immune receptors. *Blood*, 2010; 115: 1865–1872.

14. Parham P, McQueen KL. Alloreactive killer cells: hindrance and help for haematopoietic transplants. *Nat Rev Immunol*. 2003 Feb;3(2):108-22
15. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, Goldman JM, Kersey J, Kolb HJ, et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*. 1990 Feb 1;75(3):555-62.
16. Dickinson AM, Norden J, Li S, Hromadnikova I, Schmid C, Schmetzer H, et al. Graft-versus-Leukemia Effect Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Leukemia. *Front Immunol*. 2017 Jun 7; 8:496.
17. Martin PJ, Levy RB. Engraftment, Graft Rejection, and Graft Failure. En: Socié G, Zeiser R, Blazar BR. *Immune Biology of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Models in Discovery and Translation*. 2da ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2019. p. 69-84.
18. Socié G, Zeiser R, Blazar BR. Overview of the immune biology of allogeneic HSCT. En: Socié G, Zeiser R, Blazar BR. *Immune Biology of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Models in Discovery and Translation*. 2da ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2019. p. 69-84.
19. Simonetta F, Alvarez M, Negrin RS. Natural Killer Cells in Graft-versus-Host-Disease after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Front Immunol*. 2017 Apr 25; 8:465.
20. Moretta L, Locatelli F, Pende D, Sivori S, Falco M, Bottino C, et al. Human NK receptors: from the molecules to the therapy of high risk leukemias. *FEBS Lett*. 2011 Jun 6;585(11):1563-7.
21. Vivier E, Tomasello E, Baratin M, Walzer T, Ugolini S. Functions of natural killer cells. *Nat Immunol*. 2008 May;9(5):503-10.
22. Wilk AJ, Blish CA. Diversification of human NK cells: Lessons from deep profiling. *J Leukoc Biol*. 2018 Apr;103(4):629-641.
23. Arvindam US, Aguilar EG, Felices M, Murphy W, Miller J. Natural killer cells in GvHD and GvL. En: Socié G, Zeiser R, Blazar BR. *Immune Biology of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Models in Discovery and Translation*. 2da ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2019. p. 69-84.
24. Kim S, Poursine-Laurent J, Truscott SM, Lybarger L, Song YJ, Yang L, et al. Licensing of natural killer cells by host major histocompatibility complex class I molecules. *Nature*. 2005 Aug 4;436(7051):709-13.
25. Schönberg K, Sribar M, Enczmann J, Fischer JC, Uhrberg M. Analyses of HLA-C-specific KIR repertoires in donors with group A and B haplotypes suggest a ligand-instructed model of NK cell receptor acquisition. *Blood*. 2011 Jan 6;117(1):98-107.
26. Raulet DH. Missing self-recognition and self-tolerance of natural killer (NK) cells. *Semin Immunol*. 2006 Jun;18(3):145-50.
27. Sun JC, Lanier LL. NK cell development, homeostasis and function: parallels with CD8⁺ T cells. *Nat Rev Immunol*. 2011 Aug 26;11(10):645-57.

28. Tripathy SK, Keyel PA, Yang L, Pingel JT, Cheng TP, Schneeberger A, et al. Continuous engagement of a self-specific activation receptor induces NK cell tolerance. *J Exp Med*. 2008 Aug 4;205(8):1829-41.
29. Campbell KS, Purdy AK. Structure/function of human killer cell immunoglobulin-like receptors: lessons from polymorphisms, evolution, crystal structures and mutations. *Immunology*. 2011 Mar;132(3):315-25.
30. Foley B, Felices M, Cichocki F, Cooley S, Verneris MR, Miller JS. The biology of NK cells and their receptors affects clinical outcomes after hematopoietic cell transplantation (HCT). *Immunol Rev*. 2014 Mar; 258(1):45-63.
31. Colucci F, Traherne J. Killer-cell immunoglobulin-like receptors on the cusp of modern immunogenetics. *Immunology*. 2017 Jul 29.
32. Middleton D, Gonzelez F. The extensive polymorphism of KIR genes. *Immunology*. 2010 Jan;129(1):8-19.
33. Seggewiss R, Einsele H. Immune reconstitution after allogeneic transplantation and expanding options for immunomodulation: an update. *Blood*. 2010 May 13;115(19):3861-8.
34. Kim HT, Armand P, Frederick D, Andler E, Cutler C, Koreth J, et al. Absolute lymphocyte count recovery after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation predicts clinical outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 May;21(5):873-80.
35. Nguyen S, Dhedin N, Vernant JP, Kuentz M, Al Jijakli A, Rouas-Freiss N, et al. NK-cell reconstitution after haploidentical hematopoietic stem-cell transplantations: immaturity of NK cells and inhibitory effect of NKG2A override GvL effect. *Blood*. 2005;105(10):4135-42.
36. Pfeiffer MM, Feuchtinger T, Teltschik HM, Schumm M, Müller I, Handgretinger R, et al. Reconstitution of natural killer cell receptors influences natural killer activity and relapse rate after haploidentical transplantation of T- and B-cell depleted grafts in children. *Haematologica*. 2010 Aug;95(8):1381-8.
37. Ogonek J, Kralj Juric M, Ghimire S, Varanasi PR, Holler E, Greinix H, et al. Immune Reconstitution after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Front Immunol*. 2016 Nov 17; 7:507.
38. Mehta RS, Rezvani K. Immune reconstitution post allogeneic transplant and the impact of immune recovery on the risk of infection. *Virulence*. 2016 Nov 16;7(8):901-916.
39. de Witte MA, Sarhan D, Davis Z, Felices M, Vallera DA, Hinderlie P, et al. Early Reconstitution of NK and $\gamma\delta$ T Cells and Its Implication for the Design of Post-Transplant Immunotherapy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018 Jun;24(6):1152-1162.
40. Kim SY, Lee H, Han MS, Shim H, Eom HS, Park B, et al. Post-Transplantation Natural Killer Cell Count: A Predictor of Acute Graft-Versus-Host Disease and Survival Outcomes After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia*, Vol. 16, No. 9, 527-35.

41. Minculescu L, Marquart HV, Friis LS, Petersen SL, Schiødt I, Ryder LP. Early Natural Killer Cell Reconstitution Predicts Overall Survival in T Cell-Replete Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016 Dec;22(12):2187-2193.
42. Ruggeri L, Parisi S, Urbani E, Curti A. Alloreactive Natural Killer Cells for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia: From Stem Cell Transplantation to Adoptive Immunotherapy. *Front Immunol.* 2015; 6: 479.
43. Beksaç M, Dalva K. Role of Killer Immunoglobulin-Like Receptor and Ligand Matching in Donor Selection. *Bone Marrow Research,* 2012: 271695.
44. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, Perruccio K, Shlomchik WD, Tosti A, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science.* 2002 Mar 15;295(5562):2097-100.
45. Ruggeri L, Capanni M, Casucci M, Volpi I, Tosti A, Perruccio K, et al. Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 1999 Jul 1;94(1):333-9.
46. Giebel S, Locatelli F, Lamparelli T, Velardi A, Davies S, Frumento G, et al. Survival advantage with KIR ligand incompatibility in hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors. *Blood.* 2003 Aug 1;102(3):814-9.
47. Nowak J, Kościńska K, Mika-Witkowska R, Rogatko-Koroś M, Mizia S, Jaskuła E, et al. Donor NK cell licensing in control of malignancy in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Am J Hematol.* 2014 Oct;89(10): 176-183.
48. Farag SS, Bacigalupo A, Eapen M, Hurley C, Dupont B, Caligiuri MA, et al. The effect of KIR ligand incompatibility on the outcome of unrelated donor transplantation: a report from the center for international blood and marrow transplant research, the European blood and marrow transplant registry, and the Dutch registry. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006 Aug;12(8):876-84.
49. Leung W, Iyengar R, Turner V, Lang P, Bader P, Conn P, et al. Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cells. *J Immunol.* 2004 Jan 1;172(1):644-50.
50. Park S, Kim K, Jang JH, Kim SJ, Kim WS, Kang ES, et al. KIR alloreactivity based on the receptor-ligand model is associated with improved clinical outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Result of single center prospective study. *Hum Immunol.* 2015 Sep;76(9):636-43.
51. Chen DF, Prasad VK, Broadwater G, Reinsmoen NL, DeOliveira A, Clark A, et al. Differential impact of inhibitory and activating Killer Ig-Like Receptors (KIR) on high-risk patients with myeloid and lymphoid malignancies undergoing reduced intensity transplantation from haploidentical related donors. *Bone Marrow Transplant.* 2012 Jun;47(6):817-23.
52. Sivioli S, Carlomagno S, Falco M, Romeo E, Moretta L, Moretta A. Natural killer cells expressing the KIR2DS1-activating receptor efficiently kill T-cell blasts and dendritic cells: implications in haploidentical HSCT. *Blood.* 2011 Apr 21;117(16):4284-92.

53. Mancusi A, Ruggeri L, Urbani E, Pierini A, Massei MS, Carotti A, et al. Haploidentical hematopoietic transplantation from KIR ligand-mismatched donors with activating KIRs reduces nonrelapse mortality. *Blood*. 2015 May 14;125(20):3173-82.
54. Zhao X-Y, Chang Y-J, Xu L-P, Zhang X-H, Liu K-Y, Li D, et al. HLA and KIR genotyping correlates with relapse after T-cell-replete haploidentical transplantation in chronic myeloid leukaemia patients. *Br J Cancer*. 2014 Sep 9; 111(6): 1080–1088.
55. Gagne K, Brizard G, Gueglio B, Milpied N, Herry P, Bonneville F, et al. Relevance of KIR gene polymorphisms in bone marrow transplantation outcome. *Hum Immunol*. 2002 Apr;63(4):271-80.
56. Parham P. Immunogenetics of killer-cell immunoglobulin-like receptors. *Tissue Antigens*. 2003; 62:194–200.
57. Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, Klein JP, Wang T, Le CT, et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2010 Oct 7;116(14):2411-9.
58. Cooley S, Trachtenberg E, Bergemann TL, Saeteurn K, Klein J, Le CT, et al. Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2009 Jan 15;113(3):726-32.
59. Gagne K, Busson M, Bignon JD, Balère-Appert ML, Loiseau P, Dormoy A, et al. Donor KIR3DL1/3DS1 gene and recipient Bw4 KIR ligand as prognostic markers for outcome in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Nov;15(11):1366-75.
60. Faridi RM, Kemp TJ, Dharmani-Khan P, Lewis V, Tripathi G, Rajalingam R, et al. Donor-Recipient Matching for KIR Genotypes Reduces Chronic GVHD and Missing Inhibitory KIR Ligands Protect against Relapse after Myeloablative, HLA Matched Hematopoietic Cell Transplantation. *PLoS One*. 2016 Jun 24;11(6):e0158242.
61. Impola U, Turpeinen H, Alakulppi N, Linjama T, Volin L, Niittyvuopio R, et al. Donor Haplotype B of NK KIR Receptor Reduces the Relapse Risk in HLA-Identical Sibling Hematopoietic Stem Cell Transplantation of AML Patients. *Front Immunol*. 2014 Aug 25;5:405.
62. Bachanova V, Weisdorf DJ, Wang T, Marsh SGE, Trachtenberg E, Haagenson MD, et al. Donor KIR B Genotype Improves Progression-Free Survival of Non-Hodgkin Lymphoma Patients Receiving Unrelated Donor Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2016 Sep;22(9):1602-1607.
63. McQueen KL, Dorigi KM, Guethlein LA, Wong R, Sanjanwala B, Parham P. Donor-recipient combinations of group A and B KIR haplotypes and HLA class I ligand affect the outcome of HLA-matched, sibling donor hematopoietic cell transplantation. *Hum Immunol*. 2007;68(5):309-23.

64. Symons HJ, Leffell MS, Rossiter ND, Zahurak M, Jones RJ, Fuchs EJ. Improved survival with inhibitory killer immunoglobulin receptor (KIR) gene mismatches and KIR haplotype B donors after nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010 Apr;16(4):533-42.
65. Bastos-Oreiro M, Anguita J, Martínez-Laperche C, Fernández L, Buces E, Navarro A, et al. Inhibitory killer cell immunoglobulin-like receptor (iKIR) mismatches improve survival after T-cell-repleted haploidentical transplantation. *Eur J Haematol.* 2016 May;96(5):483-91.
66. Michaelis SU, Mezger M, Bornhäuser M, Trenscher R, Stuhler G, Federmann B, et al. KIR haplotype B donors but not KIR-ligand mismatch result in a reduced incidence of relapse after haploidentical transplantation using reduced intensity conditioning and CD3/CD19-depleted grafts. *Ann Hematol.* 2014 Sep;93(9):1579-86.
67. Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, Klein JP, Wang T, Marsh SG, et al. Donor killer cell Ig-like receptor B haplotypes, recipient HLA-C1, and HLA-C mismatch enhance the clinical benefit of unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *J Immunol.* 2014 May 15;192(10):4592-600.
68. Houdová L, Fetter M, Jindra P, Georgiev D. Optimal Donor Selection During Verification Process: Which Factors Are Worth Knowing? *Transplant Proc.* 2018 Dec;50(10):3082-3087.
69. Bonilla C, Yunis EJ, Yunis JJ. 85-P: Diversity of KIR Profiles in Colombian Populations. *Human Immunology.* 2010;71, Supplement 1: S74.
70. INS: Instituto Nacional de Salud de Colombia [Internet]. Bogotá: INS, 2016 [actualizado 07 Jun 2016; citado 18 Dic 2019]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/el-instituto-nacional-de-salud-respalda-la-tradicion-cientifica-y-tecnica-de-trasplantes-de-medula-osea-en-colombia.aspx>
71. Vierra-Green C, Roe D, Jayaraman J, Trowsdale J, Traherne J, Kuang R, et al. Estimating KIR Haplotype Frequencies on a Cohort of 10,000 Individuals: A Comprehensive Study on Population Variations, Typing Resolutions, and Reference Haplotypes. *PLoS One.* 2016 Oct 10;11(10): e0163973.
72. Pyo CW, Guethlein LA, Vu Q, Wang R, Abi-Rached L, Norman PJ, et al. Different patterns of evolution in the centromeric and telomeric regions of group A and B haplotypes of the human killer cell Ig-like receptor locus. *PLoS One.* 2010 Dec 29;5(12): e15115.
73. Jiang W, Johnson C, Jayaraman J, Simecek N, Noble J, Moffatt MF, et al. Copy number variation leads to considerable diversity for B but not A haplotypes of the human KIR genes encoding NK cell receptors. *Genome Res.* 2012 Oct;22(10):1845-54.
74. Gourraud PA, Meenagh A, Cambon-Thomsen A, Middleton D. Linkage disequilibrium organization of the human KIR superlocus: implications for KIR data analyses. *Immunogenetics.* 2010 Dec;62(11-12):729-40.

75. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2005 Dec;11(12):945-56.
76. Santabarbara J, Rubio E, Martinez T. Análisis de supervivencia univariado: curvas de supervivencia. En: Santabarbara J, Rubio E, Martinez T. Manual de análisis de supervivencia: curvas de supervivencia y regresión de Cox. 1ra ed. Prensas de la Universidad de Zaragoza; 2016. p 19-29
77. Nakimuli A, Chazara O, Farrell L, Hiby SE, Tukwasibwe S, Knee O, et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genes and their HLA-C ligands in a Ugandan population. *Immunogenetics*. 2013 Nov;65(11):765-75.
78. Arnheim L, Dillner J, Sanjeevi CB. A population-based cohort study of KIR genes and genotypes in relation to cervical intraepithelial neoplasia. *Tissue Antigens*. 2005 Mar;65(3):252-9.
79. Hollenbach JA, Nocedal I, Ladner MB, Single RM, Trachtenberg EA. Killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) gene content variation in the HGDP-CEPH populations. *Immunogenetics*. 2012 Oct;64(10):719-37.
80. Middleton D, Jones AR, McCabe A. Allele Frequency Net Database [Internet]. Royal Liverpool University Hospital. Liverpool: 2003-2019 [citado 18 Dic 2019]. Disponible en: <http://www.allelefrequencys.net/kir.asp>
81. Augusto DG, Amorim LM, Farias TD, Petzl-Erler ML. KIR and HLA genotyping of Japanese descendants from Curitiba, a city of predominantly European ancestry from Southern Brazil. *Hum Immunol*. 2016 Apr;77(4):336-7.
82. Augusto DG, Piovezan BZ, Tsuneto LT, Callegari-Jacques SM, Petzl-Erler ML. KIR gene content in amerindians indicates influence of demographic factors. *PLoS One*. 2013;8(2): e56755.
83. de Alencar JB, Zacarias JMV, Moura BLDSG, Braga MA, Visentainer JEL, Sell AM. KIR and HLA ligands demonstrate genetic inheritance diversity in Japanese descendants from Paraná, Brazil. *Hum Immunol*. 2018 Apr;79(4):191-192.
84. Single RM, Martin MP, Gao X, Meyer D, Yeager M, Kidd JR, et al. Global diversity and evidence for coevolution of KIR and HLA. *Nat Genet*. 2007 Sep;39(9):1114-9.
85. Castro-Santos P, Verdugo RA, Díaz-Peña R. Killer cell immunoglobulin-like receptor genotypes in a Chilean population from Talca. *Hum Immunol*. 2018 Sep;79(9):651-652.
86. Gutiérrez-Rodríguez ME, Sandoval-Ramírez L, Díaz-Flores M, Marsh SG, Valladares-Salgado A, Madrigal JA, et al. KIR gene in ethnic and Mestizo populations from Mexico. *Hum Immunol*. 2006 Jan-Feb;67(1-2):85-93.
87. Machado-Sulbaran AC, Muñoz-Valle JF, Ramírez-Dueñas MG, Baños-Hernández CJ, Graciano-Machuca O, Velarde-De la Cruz EE, et al. Distribution of KIR genes and KIR2DS4 gene variants in two Mexican Mestizo populations. *Hum Immunol*. 2017 Oct;78(10):614-620.

88. Gendzekhadze K, Norman PJ, Abi-Rached L, Layrisse Z, Parham P. High KIR diversity in Amerindians is maintained using few gene-content haplotypes. *Immunogenetics*. 2006 Jun;58(5-6):474-80.
89. Ewerton PD, Leite Mde M, Magalhães M, Sena L, Melo dos Santos EJ. Amazonian Amerindians exhibit high variability of KIR profiles. *Immunogenetics*. 2007 Aug;59(8):625-30.
90. Velickovic M, Velickovic Z, Dunckley H. Diversity of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Pacific Islands populations. *Immunogenetics*. 2006 Jul;58(7):523-32.
91. Rajalingam R, Du Z, Meenagh A, Luo L, Kavitha VJ, Pavithra-Arulvani R, et al. Distinct diversity of KIR genes in three southern Indian populations: comparison with world populations revealed a link between KIR gene content and pre-historic human migrations. *Immunogenetics*. 2008 May;60(5):207-17.
92. Horowitz A1, Strauss-Albee DM, Leipold M, Kubo J, Nemat-Gorgani N, Dogan OC, et al. Genetic and environmental determinants of human NK cell diversity revealed by mass cytometry. *Sci Transl Med*. 2013 Oct 23;5(208):208ra145.
93. Fleischhauer K, Hsu KC, Shaw BE. Prevention of relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation by donor and cell source selection. *Bone Marrow Transplant*. 2018 Dec;53(12):1498-1507.
94. Solomon SR, Aubrey MT, Zhang X, Piluso A, Freed BM2, Brown S, et al. Selecting the Best Donor for Haploidentical Transplant: Impact of HLA, Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genotyping, and Other Clinical Variables. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018 Apr;24(4):789-798.
95. Babor F, Peters C, Manser AR, Glogova E, Sauer M, Pötschger U, et al. Presence of centromeric but absence of telomeric group B KIR haplotypes in stem cell donors improve leukaemia control after HSCT for childhood ALL. *Bone Marrow Transplant*. 2019 Nov;54(11):1847-1858.
96. Giebel S, Nowak I, Dziaczkowska J, Czerw T, Wojnar J, Krawczyk-Kulis M, et al. Activating killer immunoglobulin-like receptor incompatibilities enhance graft-versus-host disease and affect survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Haematol*. 2009 Oct;83(4):343-56.
97. Torío A, Pascual MJ, Vidales I, Ortiz M, Caballero A, Heiniger AI. Donor Selection Based on Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor (KIR) Genotype May Improve Outcome After T-Cell-Replete Haploidentical Transplantation. *Transplant Proc*. 2018 Mar;50(2):679-682.
98. Elfishawi SM, Mossallam GI, El-Fattah RA, El-Haddad A, Kamel AM. The effect of killer cell immunoglobulin-like receptor genotype on outcome of hematopoietic stem cell transplantation from matched sibling. *Hum Immunol*. 2017 Nov;78(11-12):684-691.
99. Hsu KC, Gooley T, Malkki M, Pinto-Agnello C, Dupont B, Bignon JD, et al. KIR ligands and prediction of relapse after unrelated donor hematopoietic cell

transplantation for hematologic malignancy. *Biol Blood Marrow Transpl* 2006;12:828e36.