

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
UNAN-MANAGUA  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD.  
“LUIS FELIPE MONCADA“



SEMINARIO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA  
EN BIOANÁLISIS CLÍNICO.

**Tema:** APLICACIÓN DE DIAGNÓSTICO DE LA INMUNOHEMATOLOGÍA EN BANCO  
DE SANGRE.

**Sub Tema:** EXÁMENES DE ANTÍGENO DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

**Autores:**

1. Br.Pavón Gaitán Alba Marina.
2. Br.Pupiro López Cristian Isabel.

**Tutor:** MsC. Maniuska Herrera Espinosa.

**Asesor metodológico:**

MsC. Ligia Lorena Ortega.

Managua-Marzo 2017.

**Tema:**

APLICACIÓN DE DIAGNOSTICO DE LA INMUNOHEMATOLOGIA EN BANCO DE SANGRE.

**Sub Tema:**

EXAMENES DE ANTIGENO DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

## INDICE

<b>i. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>ii. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>2</b>
<b>iii. OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
<b>iv. DISEÑO METODOLÓGICO .....</b>	<b>4</b>
<b>v. DESARROLLO .....</b>	<b>6</b>
<b>5.1 Datos Históricos del Sistema HLA.....</b>	<b>6</b>
<b>5.2 Función que desempeña el Sistema Mayor de     Histocompatibilidad (HLA) en los trasplantes .....</b>	<b>9</b>
<b>5.3 Tipos de antígenos de Histocompatibilidad HLA.....</b>	<b>11</b>
<b>5.4 Métodos de detección del sistema HLA:.....</b>	<b>27</b>
<b>5.5 Importancia del sistema HLA en la actualidad. ....</b>	<b>33</b>
<b>vi. CONCLUSIONES .....</b>	<b>35</b>
<b>vii. BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>37</b>
<b>viii. ANEXO.....</b>	<b>3</b>

## DEDICATORIA

A Dios, por guiarnos en cada momento de nuestras vidas y a lo largo de esta carrera con entusiasmo, salud y amor. A nuestras familias y seres amados, que han estado en todos los momentos vividos, que constantemente nos han apoyado para seguir adelante y llegar a culminar nuestras metas. A todas las personas que nos han dado siempre su apoyo incondicional.

-Alba Marina Pavón Gaitán.

-Cristian Isabel Pupiro López.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por la vida, salud y amor. A nuestras familias que nos apoyan siempre para que alcancemos nuestras metas y sueños. Al Instituto Politécnico de la Salud y a los Profesores que nos han brindado la oportunidad de lograr y alcanzar nuestras metas, por enseñarnos todos los conocimientos adquiridos durante estos cinco años de la carrera. A todas aquellas personas que de una u otra forma nos dieron su apoyo incondicional.

## VALORACIÓN DEL DOCENTE

EL Sistema Mayor de Histocompatibilidad (HLA) es un sistema muy complejo en el que desempeñan un papel muy importante en una serie de eventos relacionados con la aplicación de diagnóstico de la Inmunohematología en banco de sangre.

Con el presente trabajo los autores proporcionan una información actualizada que enriquecerá el acervo bibliográfico sobre el tema, brindando al lector una ilustración clara de fácil comprensión sobre cada uno de los aspectos científicos que se han logrado investigar acerca del HLA relacionados al que hacer de su diagnóstico y sus exámenes de histocompatibilidad.

Por lo cual considero que este trabajo de tipo documental con el **Tema:** “APLICACION DE DIAGNOSTICO DE LA HINMUNOHEMATOLOGIA EN BANCO DE SANGRE”.

**Sub Tema:** EXAMENES DE ANTIGENO DE HISTOCOMPATIBILIDAD, reúne todos los requerimientos científicos y metodológicos para ser presentado y defendido por sus autores.

Tutora:

Lic. Maniuska Herrera Espinosa

POLISAL-UNAN-MANAGUA

## RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo principal abordar la importancia del sistema HLA haciendo énfasis en los exámenes de antígeno de histocompatibilidad. Se estudiaron aspectos, tales como: Describir la función que desempeña el sistema mayor de histocompatibilidad (HLA) en los trasplantes, exponer los tipos de antígenos de histocompatibilidad del sistema HLA. explicar los métodos de detección en la investigación del sistema HLA, así como también valorar la importancia del sistema HLA en la actualidad.

El diseño de la investigación se basó en un estudio documental descriptivo, donde se abordaron los aspectos señalados en los objetivos propuestos. Para obtener la información que sustenta este trabajo se utilizaron técnicas para la recolección de datos como fichas bibliográficas, análisis de literatura y documentos encontrados en internet para lograr el propósito de la investigación. Así como también programas de Microsoft Word 2010 para la realización y entrega del trabajo y PowerPoint 2010 para la presentación y defensa del trabajo.

Finalmente se concluye que: El Sistema HLA y los exámenes de antígeno de histocompatibilidad, desempeña una función importante en los trasplantes de órganos con el reconocimiento de antígenos y anticuerpos que pueden producir una reacción adversa en los trasplantes.

La dinámica de los holotipos del Sistema HLA consiste en diferenciar lo propio de lo ajeno. En el reconocimiento de aloantígenos, las células del donante reconocerían los antígenos HLA extraños del receptor, que podrían activarse, proliferarse y atacar al huésped. Las pruebas celulares, serológicas y moleculares se utilizan en la tipificación HLA para determinar el grado de compatibilidad que exhibe el receptor donador, detectar en el receptor anticuerpos anti-HLA clínicamente relevantes dirigidos en contra de las especificidades antigénicas de su potencial donador, conocer el grado de aloinmunización humoral del paciente (sensibilización) y conocer la especificidad del anticuerpo anti HLA presente para evaluar el estatus inmunológico del paciente y la selección del donador.

## I. INTRODUCCIÓN

El Sistema Principal de Histocompatibilidad (MHC, del inglés Major Histocompatibility Complex) es un conjunto de genes en su mayoría altamente polimórficos, cuyos productos se expresan en la superficie de gran variedad de células y que son responsables de la respuesta inmune “adaptativa”. Se considera que estos genes están presentes en todos los vertebrados y en el hombre recibe el nombre de sistema HLA (del inglés, Human Leukocyte Antigen).

Fue descubierto en los años 50 en una situación artificial de trasplante de tejidos de un individuo a otro. Las proteínas que codifican estos genes se denominan “moléculas HLA” o “antígenos HLA” que son los que determinan el rechazo o aceptación de un injerto. Así, dos individuos que expresen en sus células el mismo HLA aceptan tejidos trasplantados uno del otro, e individuos que difieran en estos lo rechazarán vigorosamente.

El papel principal de los genes HLA en la respuesta inmune frente a antígenos fue postulada en 1970 cuando se demostró que los linfocitos T antígeno-específicos no reconocían antígenos libres o en forma soluble, sino que reconocían porciones de proteínas antigénicas unidas no covalentemente a las moléculas HLA. Puesto que estas moléculas son proteínas asociadas a membrana, los linfocitos T pueden reconocer antígenos extraños solamente si están unidos a la superficie de otras células. Esta limitación en la activación de los linfocitos T es debida a que interaccionan mejor con otras células que muestran antígenos asociados a moléculas HLA que en forma soluble.

El modelo de asociación del antígeno con la molécula HLA determina el tipo de linfocito T que es estimulado. Así, los antígenos unidos a moléculas HLA de clase I estimulan principalmente linfocitos T CD8+ y los unidos a moléculas HLA de clase II estimulan principalmente linfocitos T CD4+.

La forma en que estos genes influyen en la respuesta inmune frente a diferentes antígenos viene determinada por la modulación del repertorio de células T maduras realizada por el MHC. De esta manera, el sistema inmunológico es capaz de diferenciar lo “propio” de lo “no propio” (patógenos) e incluso de lo “propio alterado” (transformación tumoral).

## II. JUSTIFICACIÓN

Antes de trasplantar cualquier órgano, se hace énfasis en el estudio de las reacciones adversas que pueden producirse en la práctica en las cuales el sistema Mayor de Histocompatibilidad juega un papel muy importante.

Es importante conocer, como el Sistema Mayor de Histocompatibilidad (HLA), actúa y elabora una respuesta inmune en cuanto a las actividades que desarrolla para la protección del organismo ante diversos agentes. Por lo que este estudio se realizará con el objetivo de ser un aporte para el desarrollo de los procedimientos que se realizan antes de trasplantar un órgano o tejido.

Al mismo tiempo, el estudio servirá como guía de futuras investigaciones relacionadas a la temática desarrollada, también ayudara como antecedente bibliográfico para estudiantes que quieran desarrollar este tema en un futuro, así también servirá como documento de consulta y actualización para personal médico que quiera estudiar y actualizarse en esta temática y también para personal no médico que solo quieran saber del tema y conocer la importancia del sistema HLA.

### III. OBJETIVOS

#### **Objetivos General:**

- ❖ Abordar el sistema HLA y su relación con los exámenes de antígeno de histocompatibilidad.

#### **Objetivos Específicos:**

1. Describir la función que desempeña el Sistema Mayor de Histocompatibilidad (HLA) en los trasplantes.
2. Exponer los tipos de antígenos de histocompatibilidad del sistema HLA.
3. Explicar los métodos de detección en la investigación del sistema HLA.
4. Valorar la importancia del sistema HLA en la actualidad.

## IV. DISEÑO METODOLÓGICO

### a) Tipo de Estudio:

Tipo de investigación documental descriptiva. Fundamentada en la consulta de documentos (libros, revistas, sitios web etc.) Con el propósito de analizar de forma descriptiva y exploratoria un tópico en particular.

### b) Área de estudio:

Área de Inmunohematología, Estudia las propiedades antigénicas de los elementos figurados de la sangre y de los tumores, y de los diferentes anticuerpos que pueden existir en el suero sanguíneo (aglutininas, etc.).

Tiene como objeto de estudiar los procesos inmunitarios relacionados con la sangre, sistema de histocompatibilidad (HLA), dentro de ellos las complicaciones inmunológicas en las que se ven implicados los sistemas sanguíneos.

Uno de los aspectos más relevantes de la Inmunohematología es el estudio de compatibilidad sanguínea y de órganos.

### c) Recolección de la Información:

La información fue recolectada de fuente secundaria, los investigadores utilizaron libros de Inmunohematología, Revistas científicas, diccionarios, Páginas de internet, artículos y publicaciones donde se aborda el sistema HLA y todo lo relacionado con ello.

Se consideraron dentro de este estudio todos los datos bibliográficos, útiles para cumplir con los objetivos planteados en la investigación, la cual fue realizada de forma ordenada con la finalidad de construir conocimientos. Por lo tanto se utilizó una estrategia donde se analizó y reflexionó sistemáticamente sobre la realidad usando

diferentes documentos. Una vez recopilado y revisado todo el material documentado, la información se ordenó y se elaboró el informe final.

**d) Instrumento de Recolección:**

Se elaboraron fichas bibliográficas, análisis de documentos y de contenidos. De igual forma se elaboró un esquema de trabajo, bosquejo del subtema, esquemas, cuadros sinópticos y registros de datos.

**e) Presentación de la Información:**

Se utilizaron herramientas de informática, para el levantado de texto como el programa de Microsoft Word 2010 y el programa de Microsoft Power Point 2010 para la presentación final.

**f) Ética en la confidencialidad de los datos:**

Para la realización de este estudio únicamente se utilizó información documental guardando los principios éticos en investigación para ser divulgados posteriormente.

## V. DESARROLLO

### 5.1 Datos Históricos del Sistema HLA

El sistema HLA es parte de una rama de la inmunología, la inmunogenética, rama muy compleja por estar actualmente en pleno desarrollo. La descripción de los primeros antígenos del sistema HLA se inició en la década de 1950 cuando varios investigadores descubrieron anticuerpos leucoaglutinantes en el suero de pacientes inmunizados por transfusiones o embarazos. Estas leucoaglutininas revelaron una serie de antígenos polimórficos determinados genéticamente. Jean Dausset, nacido en Toulouse-Francia en octubre de 1916, describe en 1952 la leucoaglutinación y la Tromboaglutinación como paso previo al reconocimiento del primer antígeno leucocitario denominado MAC, luego conocido como HLA.A2. Este descubrimiento daría inicio posteriormente a la descripción del sistema de histocompatibilidad por lo cual es galardonado Dausset con el Premio Nobel en Medicina en 1980. (Decaro J., Lemos F. y Magri M., 2010).

A principios de la década del 60 la comprobación del rechazo acelerado de los injertos cutáneos en receptores preinmunizados con leucocitos periféricos de donantes potenciales sugirió una asociación entre los anticuerpos leucoaglutinantes humanos y los trasplantes tisulares. En 1964 se desarrolla por Paul Terasaki la prueba de microlinfocitotoxicidad lo cual significó un gran avance en este campo y en 1965 Dausset siendo jefe del Departamento de Inmunología del Hospital Saint Louis de Paris describe el primer sistema de antígenos tisulares denominado Hu-1 luego conocido como HLA. (Decaro J., et al., 2010).

En 1967 comenzó la estandarización de la nomenclatura HLA. A medida que se lograron más antisueros monoespecíficos y los conocimientos genéticos se acrecentaron, la nomenclatura de los antígenos HLA se amplió y sistematizó.

Actualmente la estandarización de la nomenclatura de los genes HLA y alelos es llevada a cabo por el Comité de Nomenclatura de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para los factores del sistema HLA que fue constituido en 1984. A fines de la década de 1980 se

introdujeron las técnicas basadas en el análisis del ADN que permitieron detectar los alelos determinantes de los antígenos HLA. El establecimiento de la secuencia de los ácidos nucleicos de genes que codifican las moléculas HLA modificó la clasificación que ahora se basa en las secuencias alélicas. Los métodos de detección de antígenos HLA pueden dividirse en la actualidad en tres grupos: serológicos, celulares y de ADN. (Decaro J., et al., 2010).

En junio del 2002 se habían descrito 1531 alelos, sin embargo esta cifra ha variado considerablemente y en enero del 2005 había 1814 alelos estudiados por técnicas moleculares. Se ha desarrollado el estudio y descripción de los antígenos (técnicas serológicas) y alelos (técnicas moleculares). Los antígenos y anticuerpos del sistema HLA juegan un papel destacado en los trasplantes de órganos, tejidos y células y en el desarrollo de ciertas enfermedades en especial en aquellas de posible etiología autoinmune. (Decaro J., et al., 2010).

La tipificación HLA es un componente esencial del trasplante de órganos (riñón, páncreas, hígado, corazón y pulmones), de tejidos como médula ósea o células progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica y cordón umbilical. La magnitud de la investigación y de la compatibilidad varía con el tipo de trasplante a excepción del trasplante de córnea donde no se realiza. (Decaro J., et al., 2010).

### **5.1.1 Características de su utilización en la era moderna:**

Los primeros trabajos con trasplantes de tumores en ratones habían demostrado las diferencias genéticas entre dador y receptor eran las que determinaban el éxito del injerto: si el donador tenía un determinante genético que no estaba expresado en el receptor, el injerto era rápidamente rechazado, y viceversa. Este modelo experimental llevó al desarrollo de cepas endocriados (homocigotas entre sí) lo que permitió a Gorer descubrir el sistema H-2 del ratón, o sistema mayor de Histocompatibilidad cuyos determinantes fueron denominados “antígenos de Histocompatibilidad” por Snell en 1948. Este sistema murino ha servido de modelo para el desarrollo en el hombre del sistema correspondiente, designado HLA. Los primeros estudios

que detectaron aglutininas contra leucocitos en sueros de politransfundidos fueron hechos por Dausset, seguidos por los de Van Rood y Payne en 1958, empleando sueros de múltiparas.

En 1964 el Dr. Paul Terasaki desarrolla prueba de microlinfocitotoxicidad o test NH1, en el cual los linfocitos viables (T-B) de la persona en estudio son expuestos a un panel de antisueros debidamente caracterizados en donde están incluidos los distintos tipos de HLA. La rápida acumulación de antígeno diferentes llevó a una terminología confusa hasta que en el mismo año de 1964 se iniciaron los International Histocompatibility Workshops a realizarse cada 2 años, seguidos de una reunión de un comité de nomenclatura auspiciado por WHO (OPS).

Así fue que surgió la denominación de sistema HLA, H por humanos (según algunos, por Histocompatibilidad), L por leucocitos y A por el primer locus descrito (y no por el antígeno). Inicialmente se le asignaba un número correlativo a cada nuevo antígeno, pero debido a la complejidad de sus interrelaciones, se decidió adjudicar una tarea mayúscula para cada locus (sitio del gen en el cromosoma), reservando el prefijo HLA para todo el sistema. Actualmente se conocen los diferentes locus A, B, C y D (o DR).

Los antígenos A, B y C están presentes en la membrana de leucocitos, plaquetas y reticulocitos pero no sobre glóbulos rojos, y en forma soluble se encuentran en el suero. Los antígenos D se detectan por cultivo mixto de linfocitos. En 1971, Cepellini y col. observaron que algunos sueros empleados para tipificar HLA-A y -B inhibían una reacción positiva en cultivo mixto de linfocitos. Por otra parte, se había observado que se conseguían títulos más altos con algunos sueros frente a linfocitos periféricos normales. Ambas observaciones llevaron al descubrimiento del locus DR, cuyos antígenos están presentes sobre linfocitos B y no sobre linfocitos T, lo que explica los bajos títulos obtenidos con linfocitos periféricos, donde el 80% son linfocitos T y los mejores resultados obtenidos con líneas celulares ya que son, casi exclusivamente, compuestas por linfocitos B (con excepción de las establecidas específicamente a partir de linfocitos T). (Carrea R., 1979).

Estos antígenos DR corresponderían a los (Ia) (immune-associated) del ratón y suelen designarse como DRw (Ia) con números de 1 a 8, por ahora. Uno de los propósitos del VII Workshops fue identificar estos antígenos y diferenciarlos o no, de los locus D; se llegó a una

conclusión provisoria según la cual las diferencias serían mínimas, usándose D o DR indistintamente, por ahora. Por otra parte, Barnstable demostró en 1978 que la expresión de los antígenos A, B y C depende de la presencia de  $\beta 2$  microglobulina, con la cual están estrechamente asociados en la membrana, lo que permite eliminarlos mediante anticuerpos preparados contra esa sustancia. La  $\beta 2$  microglobulina ha sido asociada con el supuesto receptor del linfocito T, lo que asocia aún más los antígenos A, B y C a la respuesta inmune T-dependiente. (Carrea R., 1979)

La técnica descrita por el Dr. Terasaki en 1964, se ha utilizado históricamente por más de 30 años en los laboratorios de histocompatibilidad y logró estandarizarse a todo el mundo, actualmente y debido al alto grado de polimorfismo que exhibe el HLA con numerosas variantes alélicas la tipificación basada a nivel del DNA ha permitido mejorar la asignación del fenotipo HLA del individuo en estudio.

## **5.2 Función que desempeña el Sistema Mayor de Histocompatibilidad (HLA) en los trasplantes**

El trasplante de órganos y tejidos humanos es uno de los avances más importantes de la medicina moderna. Este avance es resultado de una larga serie de investigaciones de las diversas especialidades médico-biológicas, las cuales han permitido entre otras cosas el correcto manejo de los inmunosupresores que hoy día se emplean para lograr un trasplante exitoso, así como la adecuada selección del binomio donador – receptor.

Desde las primeras experiencias de trasplante se puso de manifiesto la imposibilidad de mantener durante largo tiempo un injerto funcional. Este fracaso pronto se atribuyó a mecanismos agresivos del receptor contra el donador.

Es por esto que antes de realizar un trasplante debe valorarse la compatibilidad antigénica entre el receptor y el donador, con la finalidad de optimizar la supervivencia del injerto y minimizar posibles reacciones inmunológicas.

El estudio de la compatibilidad es una prueba que evalúa unas proteínas llamadas antígenos leucocitarios humanos (HLA, por sus siglas en inglés), los cuales se encuentran en la superficie de casi toda célula del cuerpo humano. Estos antígenos se encuentran en grandes cantidades en la superficie de los glóbulos blancos y le ayudan al sistema inmunitario a establecer la diferencia entre los tejidos corporales y las sustancias extrañas.

Es importante comprender los fenómenos básicos de compatibilidad tisular y conocer las funciones del grupo de genes denominado complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y sus productos: los antígenos leucocitarios humanos, que constituyen el sistema HLA, el más polimórfico conocido en el humano. Existen dos clases de moléculas HLA, las de tipo I, HLA-A, -B y -C, y las de clase II, HLA-DR, -DQ y -DP. La función habitual del sistema HLA consiste en reconocer péptidos y exhibirlos en la superficie de las células presentadoras de antígenos, como los macrófagos, para que sean revisados por las células T y se establezca una distinción entre los antígenos propios y los extraños. Los antígenos del sistema HLA, debido a su polimorfismo, constituyen a su vez antígenos capaces de despertar una respuesta aloinmune muy poderosa. Las moléculas HLA de clase I son conocidas como antígenos clásicos de trasplante, ya que fueron los primeros descubiertos durante el estudio de la respuesta a un aloinjerto. Sin embargo, las de clase II, detectadas posteriormente, son las de mayor importancia para asegurar una adecuada histocompatibilidad.

Cada persona tiene un número de pares de antígenos HLA. Nosotros heredamos uno de esos pares de cada uno de nuestros padres (y le pasamos uno de cada par a cada uno de nuestros hijos). Los médicos tratan de compatibilizar estos antígenos encontrando un donante para la persona que recibe un trasplante de células madre. La compatibilidad HLA entre el donante y el receptor tiene un papel muy importante en determinar si el trasplante funcionará. La mejor compatibilidad ocurre cuando todos los seis antígenos HLA principales y conocidos son iguales (una compatibilidad 6 de 6). Las personas con estas compatibilidades tienen una probabilidad menor de padecer enfermedad de injerto contra huésped, rechazo de injerto, presentar un sistema inmunológico debilitado y contraer infecciones graves. Para los trasplantes de células madre de médula ósea y de sangre periférica, a veces se usa un donante con un solo antígeno que no es compatible; una compatibilidad 5 de 6. Para el éxito con los

trasplantes de sangre del cordón umbilical, una compatibilidad HLA perfecta no es tan importante, ya que hasta una compatibilidad 4 de 6 puede resultar aceptable. ([www.cancer.org](http://www.cancer.org)).

## **5.3 Tipos de antígenos de Histocompatibilidad HLA**

### **5.3.1 Antígenos humanos clase I**

Dentro de este grupo se encuadran los antígenos del loci HLA-A-B-C que se agrupan juntos por sus características comunes. Estos antígenos se expresan en la superficie de todas las células nucleadas, plaquetas y espermatozoides.

Estos antígenos son detectados principalmente mediante anticuerpos presente en el suero de embarazadas y en el suero de individuos hiperinmunizados por transfusiones. Los antígenos de clase I junto con los antígenos de clase II, actúan de marcadores para el reconocimiento de lo propio, hecho necesario en el organismo para defender de agresiones extrañas. Ellos tienen la capacidad de presentar antígenos exógenos, principalmente, a las células citotóxicas.

Los antígenos HLA de clase I (HLA-A,-B,-C) son glucoproteínas transmembranales que constan de 2 cadenas polipeptídicas unidas no covalentemente: una cadena pesada transmembranal, de 44 kd de peso molecular llamada cadena alfa y que se codifica en los loci HLA (cromosoma 6) y una cadena ligera (beta 2 microglobulina) de 12 kd de peso molecular codificada por un gen que no pertenece al sistema HLA y que se localiza en el cromosoma 15 (Orr y col.1979).

La función biológica de este grupo de antígenos HLA clase I es invertir en el brazo eferente de la inmunidad, destruir células con antígenos extraños a la propia constitución corporal del individuo e interactuar con linfocitos T citotóxicos (linfocitos T CD8+).

### **5.3.2 Antígenos humanos clase II**

Es la más centromérica y comprende unas 900 kilobases (Kb). Se divide a su vez en tres subregiones de centrómero a telómero: HLA-DP, -DQ y -DR. Los genes de clase II se definen con la letra D, seguida de la inicial de la subregión (P, Q o R). Cada subregión se compone a su vez de varios genes. Las proteínas para las que codifican estos genes están implicadas en fenómenos de restricción del reconocimiento antigénico mediado por linfocitos T cooperadores CD4+. Su distribución tisular está prácticamente limitada a células del sistema inmune: linfocitos B, macrófagos, linfocitos T activados, etc.

Entre las subregiones -DP y -DQ aparecen otra serie de genes poco conocidos, éstos son -DN, DO, -DMA y -DMB10-12. Además, en esta misma zona también se han descrito los genes TAP (TAP1 y TAP2) que codifican para proteínas transportadoras de péptidos<sup>13, 14</sup> y LMP que intervienen en el procesamiento antigénico<sup>15, 16</sup>. (Ver en Anexos Figura 4 y 5)

### **5.3.3 Antígenos humanos clase III**

Al menos 36 genes han sido identificados en el fragmento cromosómico que corresponde a esta

región. Estos genes, fuertemente ligados, abarcan un segmento de DNA de unas 100 Kb. No todos sus genes presentan función inmunológica. Así, esta región incluye factores del complemento de la vía clásica (C4A, C4B, C2) y de la vía alternativa (Bf). También mapean en esta zona los genes A y B de factores de necrosis tumoral (TNF-A y TNF-B), genes para las proteínas inducidas por estrés (HSP70-1 y HSP70-2) y muchos otros, algunos de ellos de función desconocida.

### **5.3.4 Anticuerpos del sistema HLA**

La aloinmunización o presencia de anticuerpos anti-HLA se presenta generalmente en personas que han recibido transfusiones o en las que han tenido un trasplante, por lo que han sido estimulados por los antígenos del MHC del donante o en las mujeres que han sido aloinmunizadas por leucocitos fetales que han pasado transplacentariamente a la madre. Estos anticuerpos son, por ello, de origen inmune del tipo inmunoglobulina G (IgG) con propiedades

citotóxicas y leucoaglutinantes. La existencia de estos anticuerpos “preformados” en el paciente que está sujeto a recibir un órgano o transfusión de otro individuo, puede favorecer que el rechazo del órgano o reacción adversa de la transfusión ocurra en el plazo inmediato o mediano, por lo que el detectarlo de manera previa al acto quirúrgico del trasplante o a la transfusión en pacientes altamente aloinmunizados coadyuva al éxito del mismo. De igual manera, la determinación de anticuerpos anti-HLA es una prueba que en los países más desarrollados se utiliza de manera cotidiana en la evaluación periódica de los pacientes multitransfundidos o inscritos en listas de espera de órganos provenientes de donadores fallecidos, y su importancia es tal, que dicha prueba es considerada como un parámetro importante en la asignación de los órganos, ya que permite establecer criterios de idoneidad con respecto a las posibilidades de éxito del trasplante basadas en conocer si el paciente presenta en su suero anticuerpos que favorezcan el rechazo. (Martínez J., 2013)

### **5.3.5 Funciones**

Las proteínas codificadas por los HLA son aquellos en la parte externa de las células del cuerpo que son únicas para esa persona. El sistema inmune utiliza los antígenos de leucocitos humanos para diferenciar células propias y las células no autónomas. Cualquier célula que muestra el tipo de HLA de esa persona pertenece a esa persona por lo tanto no es un invasor.

### **En la enfermedad infecciosa**

Cuando un patógeno extraño entra al cuerpo, las células específicas llamadas células presentadoras de antígeno son encargadas de engullir el patógeno a través de un proceso denominado fagocitosis. Las proteínas del patógeno se dirigen en trozos pequeños y se cargaron en antígenos HLA. A continuación, se muestran por las células presentadoras de antígenos a las células T, que a su vez producen una variedad de efectos de eliminar el patógeno.

A través de un proceso similar, las proteínas producidas en el interior de la mayoría de las células se muestran en HLA en la superficie celular. Las MC-I toman muestras de proteínas

citósicas endógenas producidas por la misma célula o por agentes que la han invadidas (virus, bacterias intracelulares, etc.) y las presentan, junto a ellas, en la membrana. Estos complejos MCI-péptido son continuamente inspeccionados por linfocitos T citotóxicos CD8+, los cuales si no reconocen como propio al antígeno se activan y destruyen a la célula que está sintetizando antígenos extraños al organismo.

Las MCII solo están en las membranas de las llamadas células presentadoras de antígenos (CPA) que están constituidas por macrófagos y células derivadas, células dendríticas y linfocitos B; estas moléculas presentan péptidos procedentes de Antígenos externos a la CPA, captados y procesados por ella para finalmente ser presentados en su superficie junto a la MCII. El si no debe destruir a las células que llevan estos antígenos en su superficie; puesto que la CPA no los produce, sino que los capta del interior y los procesa; el complejo MCII-péptido exógeno es reconocido por los linfocitos T cooperadores CD4+ y se lleva a su activación.

### **5.3.6 Presentación y procesamiento del antígeno**

Las moléculas del CMH clase I se unen a péptidos derivados de procesamiento citosólico en el retículo endoplásmico RE y los presenta a la superficie de las células T citotóxicas CD8+. El enlace de péptido es crucial para el plegamiento y estabilidad de la molécula clase I. El plegado de la molécula CMH clase I y el enlace del péptido involucra la acción coordinada de un número de proteínas. El acoplamiento de la molécula CMH clase I-complejo de captación de péptidos comienza con la interacción de la cadena pesada que contiene los dominios extracelulares  $\alpha 1$ , 2, y 3 con la molécula de proteína chaperona- calnexina que retiene la molécula en un estado parcialmente plegado en el RE. Este complejo se une a continuación con la microglobulina  $\beta 2$ . Con la unión a la  $\beta 2$ -microglobulina, el heterodímero de la cadena  $\alpha$  parcialmente doblada –  $\beta$  microglobulina se disocia de la Calnexina y se une a su homólogo, la Calreticulín, que tiene una función chaperona similar.

El complejo de la cadena  $\alpha$  parcialmente plegada:  $\beta 2$  microglobulina: Calreticulina de la molécula CMH clase I es entonces captado por complejo de captación de péptidos (PLC-

peptide loading complex) que incluye la proteína Tapasina, formando un puente entre la molécula CMH clase I y el transportador asociado con el procesamiento de antígeno TAP (transporter associated with Antigen Processing). El PLC también incluye el retículo endoplasmático-ERp57 oxidoreductasa que participa en la formación del enlace de disulfuro. La molécula CMH clase I es retenida en el RE hasta ser liberada por la unión de los péptidos.

El PLC mantiene la molécula en un estado que le permite enlazar péptidos transportados en el RE por el TAP. Las moléculas dentro del PLC contribuyen a una función de edición, reemplazando el péptido de baja afinidad con péptidos de mayor afinidad. A continuación de su unión a péptidos de alta afinidad, la molécula CMH clase I completa su plegamiento, el PLC se desensambla y el complejo péptido CMH clase I es capaz de salir de la RE y es transportado a la superficie de la célula. Las moléculas CMH de clase I generalmente se unen a péptidos de longitud de 8–10 aminoácidos que son transportados al RE por el TAP. Estos péptidos son generados por proteínas endógenas derivadas de citosol y son transformadas en péptidos por el complejo proteasa. Proteosoma. Los péptidos generados por el proteosoma son optimizados en el extremo C-terminal para su enlace con la CMH I pero a menudo se extienden en el N-terminal. Una vez en el RE, una enzima residente en el retículo endoplasmático, el antígeno asociado a la aminopeptidasa del retículo endoplasmático con propiedades únicas – ERAAP (Endoplasmic Reticulum Aminopeptidase associated with Antigen Processing) escinde los péptidos extendidos en el N-terminal, optimizando el péptido para el enlace con el CMH I.

Las moléculas CMH clase II se unen a péptidos extracelulares para su presentación a los linfocitos T CD4+ colaboradores en la vía endosomal en un sitio denominado “compartimiento de clase II del MHC” o “MIIC”. Los antígenos extracelulares son recogidos en vesículas intracelulares en la célula, generalmente macrófagos y células dendríticas y el pH de los endosomas disminuyen progresivamente resultando en la activación de proteasas y la ruptura del antígeno en fragmentos e péptidos que se enlazan a CMH clase II en el MIIC para su presentación en la superficie de la célula.

Sin embargo, la molécula de CMH clase II comienza su transporte hacia el MIIC a través de la RE y necesita por lo tanto ser protegido en el RE para evitar su enlace prematuro al péptido.

El enlace peptídico de CMH de clase II en el RE es impedido por una proteína conocida como la cadena invariante (Ii).

La cadena invariante forma un trímero, con cada una de sus subunidades vinculándose en forma no covalente a un heterodímero de CMH clase II, con la cadena invariante de polipéptido en la hendidura del sitio de unión al péptido bloqueado así a la unión. Mientras que el complejo del CMH clase II/Ii se está formando, se asocia con la molécula chaperona Calnexin.

### ➤ **En el rechazo del injerto**

El sistema inmune se ha desarrollado como una forma de discriminación entre lo propio y lo ajeno. Una vez que el organismo se enfrenta a un material extraño, procede a su reconocimiento y su destrucción. Este material extraño puede ser un microorganismo o sus productos, sustancias precedentes de otro individuo. Por lo tanto el rechazo consiste en una reacción fisiológica del sistema inmunitario contra la presencia de tejidos u órganos extraños con capacidad para producir disfunción o pérdida del injerto.

Los primeros estudios que se realizaron sobre el rechazo en el trasplante fueron llevados a cabo por Peter Brian Medawar, quien estudio los fenómenos inmunológicos desencadenados por injertos cutáneos, autologos o heterologos.

Cualquier célula que muestra otro tipo de HLA es “no-yo”, y es visto como invasor por el sistema inmunológico del cuerpo, lo que resulta en el rechazo del tejido que lleva esas células. Esto es particularmente importante en el caso de tejido trasplantado, ya que podría conducir a rechazo de trasplantes. Debido a la importancia de HLA en el trasplante, los loci HLA son algunos de los escritos con más frecuencia por serología y PRC.

### **Tipos de Trasplante o injertos.**

El tipo de trasplante depende de la relación genética entre el donador y el receptor.

Puede ser:

- **Autotrasplantes o autoinjertos:**

Es el tipo de trasplante donde el donador y el receptor son la misma persona, es decir que se utiliza tejido de un lado del cuerpo, para colocarlo en otro o que se guarda para utilizarlo en el momento en que se necesite. Entre estos tejidos están la piel, músculos, huesos, sangre o médula espinal.

- **Isotrasplantes:**

Es el tipo de trasplante donde el donador y el receptor son gemelos idénticos o univitelinos, es decir, cuando estos son genéticamente idénticos y se pueden realizar con todos los órganos y tejidos trasplantables.

- **Homotrasplantes o alotrasplantes:**

Es el tipo de trasplante donde el donador pertenece al mismo sexo y/o raza, pero que genéticamente son diferentes.

- **Heterotrasplantes o xenotrasplantes:**

Es el tipo de trasplante que se realizan entre personas genéticamente diferentes, de ambos sexos, de cualquier raza o en los que se utilizan órganos artificiales.

### **Tipos de trasplante según el donante.**

- **Donante vivo**

Se le extrae el órgano mientras el donante está vivo. Para que el donante pueda sobre vivir después del procedimiento, el órgano o tejido extraído debe ser renovable o no esencial para la vida; por ejemplo, un solo riñón de una persona que tiene un par de riñones normales, la sangre, la piel, la médula ósea y los lóbulos del hígado pueden ser trasplantados de esta manera.

- **Donante cadavérico**

En este caso el donante puede ser un individuo fallecido en muerte encefálica. Los órganos que se van a trasplantar se mantienen vivos hasta el trasplante mediante técnicas de ventilación artificial y drogas específicas para ello, que permiten que el corazón siga latiendo e irrigando los órganos a ser trasplantados. También se puede sacar órganos y tejidos de un individuo que ha sufrido un paro cardíaco

### **Tipos de Rechazos.**

- **Rechazo hiperagudo**

Momento del trasplante determina la aparición del rechazo hiperagudo. Este rechazo se produce rápidamente, y origina una microtrombosis masiva del injerto y un deterioro rápido de la función del órgano, lo que puede obligar a la retirada del injerto. Los inmunosupresores clásicos son poco eficaces en este tipo de rechazo. El rechazo mediado por anticuerpos se asocia a un rechazo de componente eminentemente vascular, con vasculitis e infiltrado perivascular, y en el que en fases avanzadas pueden verse pequeños infartos y hemorragias. Recientemente, la aparición de aloanticuerpos también se ha asociado con el rechazo crónico, pues al parecer los anticuerpos anti-HLA podrían proporcionar señales que inducirían la hiperplasia de la íntima y facilitarían la obliteración de los vasos del injerto.

Los anticuerpos preformados se pueden producir de forma natural, como en el caso de las ABO isohemaaglutininas, o pueden desarrollarse en el paciente por sensibilización a través de trasplantes previos, transfusiones de sangre o embarazo. Una de las pocas estrategias eficaces para evitar el rechazo hiperagudo es monitorizarlos y buscar para los receptores, órganos que no posean los alelos con los cuales reaccionan estos anticuerpos. La monitorización de los aloanticuerpos se realiza in vitro enfrentando el suero del receptor en lista de espera a un conjunto (o panel) de células procedentes de individuos de alelos HLA conocidos, lo que se conoce como anticuerpos frente a panel o PRA (de Panel Reacting Antibodies). En el momento previo al trasplante con un donante en concreto, se confirma in vitro si los anticuerpos del receptor reaccionan con alguno de los antígenos HLA del donante, mediante una prueba cruzada

(O cross-Match), que consiste en enfrentar suero del receptor con células vivas del donante en presencia de una fuente de complemento. Si las células mueren, prueba positiva el trasplante está contraindicado para casi todos los órganos, excepto el hígado. El riñón y el páncreas son muy susceptibles al rechazo hiperagudo, corazón y pulmón también, aunque la bibliografía es menos uniforme. Sin embargo, el hígado es poco sensible al rechazo hiperagudo y una prueba cruzada positiva no contraindica la realización del trasplante.

- **Rechazo agudo (RA)**

El proceso de rechazo celular es lo que se conoce como rechazo agudo. Este rechazo está mediado fundamentalmente por la reacción de las células T del receptor frente a los antígenos alogénicos expresados en el órgano trasplantado. El reconocimiento de estos aloantígenos pone en marcha la liberación de IL-1 y de IL- 2, con la consiguiente activación y proliferación de células CD4 y CD8(21,22 . La mayoría de los RA se producen en los primeros meses postrasplante. En general, estos episodios de rechazo se asocian a alteraciones funcionales del órgano en cuestión, como por ejemplo aumento de las cifras de creatinina plasmática en el trasplante renal, elevación de las enzimas hepáticas en el trasplante hepático, y alteraciones en el ECG y/o ecocardiograma en el cardíaco. Pero, la biopsia del órgano trasplantado es el método más fiable y objetivo de diagnosticar el RA. Las lesiones histológicas del rechazo son muy parecidas en los distintos tipos de trasplantes, destacando un infiltrado intersticial por linfocitos, predominantemente T, que provoca una lesión del parénquima correspondiente.

En las fases iniciales del rechazo se puede observar la presencia de polimorfonucleares y eosinófilos en el infiltrado intersticial, en fases más evolucionadas con destrucción celular se observa un infiltrado por macrófago-monocitos. En casos graves pueden asociarse lesiones de endotelitis y/o arteritis, que pueden ir acompañadas de mayor grado de lesiones parenquimatosas. En todos los trasplantes existe una clasificación anatomopatológica de la severidad del rechazo, que permite su gradación, y también poder establecer un pronóstico y tratamiento adecuado.

Las lesiones que aparecen durante el RA son potencialmente reversibles, pero en ocasiones se mantienen y determinan una forma de rechazo que puede evolucionar hacia las formas de rechazo crónico. La reversibilidad del rechazo se hace menos probable a medida que desaparece componente celular y predomina el de fibrosis intersticial. La incidencia de RA es variable según el tipo de trasplante, cifrándose en unos porcentajes del 60-70% en trasplante cardíaco, del 10-20% en trasplante renal, del 30-40% en hepático y del 40-75% en pulmonar. Diversas razones podrían justificar esta diferencia entre órganos: un factor decisivo podría ser la práctica de biopsias por protocolo en el trasplante cardíaco, lo que aumentaría la posibilidad de su diagnóstico, pero también pueden intervenir factores inmunológicos entre el donante y receptor, que condicionarían una respuesta alodérmica distinta, así como factores propios del órgano en cuestión, siendo más o menos inmunogénico.

En la actualidad, rara vez un episodio de RA ocasiona fallo del injerto trasplantado, ya que los tratamientos inmunosupresores disponibles permiten revertir la mayoría de estos episodios. Sin embargo, el RA de aparición tardía es de peor pronóstico, posiblemente porque obedece a mecanismos inmunológicos distintos, pero también porque su diagnóstico y tratamiento se suelen retrasar. Efectivamente, su identificación histológica es más difícil porque no siempre están presentes los signos clásicos de infiltrado intersticial con lesión parequimatoso, la respuesta al tratamiento no es tan alta como en el rechazo de las primeras semanas postrasplante (50% frente al 75%) y la evolución a la cronicidad es netamente superior (27% frente al 5%). Uno de los aspectos no totalmente dilucidados respecto al RA es su repercusión sobre la supervivencia a largo plazo del injerto y del paciente. En general, se considera que el RA tiene un impacto negativo en los resultados del trasplante, ya que favorece el desarrollo de rechazo crónico. Sin embargo, en el trasplante hepático las cosas no son tan evidentes, ya que los episodios de rechazo parecen tener un impacto negativo únicamente en relación con la infección por VHC, siendo importante evitarlos en el trasplante hepático VHC+ pero no en los VHC-, donde el RA podría tener un papel positivo en la inducción de tolerancia.

- **Rechazo crónico (RC)**

La definición de rechazo crónico no se ha establecido con exactitud, y se ha acordado caracterizarlo por la aparición de una serie de cambios clínicos y funcionales en el órgano trasplantado, acompañados de hallazgos histopatológicos específicos en el mismo. La evolución clínica característica del rechazo crónico es un deterioro lento, progresivo y gradual de la función del injerto, cuyo inicio suele ser asintomático en la mayor parte de los casos. Actualmente, se tiende a abandonar el término rechazo crónico y, dependiendo de cada tipo de trasplante se utiliza una terminología más genérica, como nefropatía crónica del injerto (riñón), enfermedad vascular del injerto (corazón) o bronquiolitis obliterante (pulmón).

Desde el punto de vista histológico, la característica común del rechazo crónico en todos los órganos es el desarrollo de una fibrosis obliterante en las estructuras huecas del injerto (vasos, bronquiolos, conductos biliares), con aparición de signos inflamatorios crónicos, fibrosis intersticial y arteriosclerosis. En todos los trasplantes la prevalencia de rechazo crónico a los 5 años oscila alrededor del 20-70%. La amplitud de este intervalo depende del efecto centro y, naturalmente del órgano en cuestión. Así en pulmón es del 35-50%(26), en corazón del 50% (aunque el 100% muestran lesiones típicas de rechazo crónico tras biopsia), en riñón del 15-35% y en hígado del 15-50%. En general, cuando el primer trasplante ha fracasado por el desarrollo de rechazo crónico, la recidiva de esta entidad tras el retrasplante es mayor.

➤ **En la autoinmunidad:**

Los Tipos de HLA se heredan, y algunos de ellos están relacionados con enfermedades autoinmunes y otras enfermedades. Las personas con ciertos antígenos HLA son más propensas a desarrollar ciertas enfermedades autoinmunes, como la Diabetes tipo I, la Espondilitis Anquilosante, Enfermedad Celíaca, Lupus Eritematoso Sistémico, Miastenia Grave, Miositis por cuerpos de inclusión etc. La Tipificación de HLA ha dado lugar a algunas mejoras y la aceleración en el diagnóstico de la Enfermedad Celíaca y la Diabetes tipo 1, sin embargo para la tipificación DQ2 para ser útil, se requiere ya sea de alta resolución B1, DQA1, o DR serotipificación. En la serotipificación actual puede resolver, en un solo paso, así mismo la DQ8-HLA en la autoinmunidad se está utilizando cada vez más como una

herramienta de diagnóstico. En la enfermedad celíaca, es el único medio eficaz para discriminar entre familiares de primer grado que están en situación de riesgo de los que no están en riesgo, antes de la aparición de los síntomas a veces irreversibles, tales como alergias y enfermedades autoinmunes secundarias.

### ➤ **En el cáncer**

En algunas enfermedades medidas por HLA están directamente involucrados en la promoción del cáncer. Enteropatía por sensibilidad al gluten se asocia con mayor prevalencia de linfoma de células T asociado a enteropatía y DR3-DQ2

Homocigotos se encuentran dentro del grupo de mayor riesgo, con cerca del 80% de las células T de los casos de linfoma enteropatía sensible al gluten asociados. Más a menudo, sin embargo, las moléculas HLA desempeñan un papel protector, reconociendo el aumento de antígenos que no son tolerados debidos a bajos niveles en el estado normal. Las células anormales pueden ser objeto de apoptosis, que se cree que mediar en muchos tipos de cáncer antes del diagnóstico.

### **5.3.7 Factores biogenéticos y herencia:**

Los antígenos HLA clase I y II son glucoproteínas de la superficie celular, productos de la expresión de genes ligados, localizados en la banda p21.3 del brazo corto del cromosoma 6. Esta región del ADN se denomina CMH y suele heredarse en bloque como un haplotipo. Los diversos loci poseen alelos múltiples con expresión codominante de los productos cromosómicos. El sistema HLA es el sistema de genes más polimórfico descrito en humanos.

Los genes HLA-A, HLA-B, HLA-C codifican los antígenos A, B, y C, de clase I. el grupo génico HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP codifica la síntesis de los antígenos del mismo nombre, de clase II. Entre los genes de clase I y II existe un grupo de genes no CMH, que codifica moléculas que incluyen a las proteínas del sistema complemento C2, Bf, C4A y C4B;

una enzima esteroide (21-hidroxilasa) y una citoquina (factor de necrosis tumoral). Esta región se denomina CMH clase III.

### **5.3.7.1 Organización de las regiones genéticas HLA:**

La región HLA de clase I contiene, además de los genes clásicos HLA-A, HLA-B, y HLA-C, otros loci génicos designados como HLA-R, HLA-F, HLA-G, HLA-E, HLA-J, HLA-K, HLA-L, MICA y MICAB. Estos últimos genes codifican para las proteínas no clásicas o HLA clase Ib, que se caracterizan por un polimorfismo limitado y bajos niveles de expresión. Algunos genes de clase I expresan proteínas no funcionales o no expresan ninguna proteína. Los genes incapaces de expresar productos proteicos funcionales se denominan pseudogenes y podrían representar una vía evolutiva muerta.

Los antígenos HLA-E regulan a las células naturales Killer. Los antígenos HLA-G se expresan en el trofoblasto y podrían estar involucrados en el desarrollo de la tolerancia inmunológica materno del fetal, la hemocromatosis hereditaria (HH), un cuadro caracterizado por sobrecarga de hierro, con una frecuencia de portadores del 10% entre los noreuropeos, se asocia a dos mutaciones sin sentido de un gen de tipo clase I. el gen responsable de la HH se llamaba HLA-H, no obstante, el comité de nomenclatura de la organización mundial de la salud (OMS) ya había adjudicado la designación HLA-H a un pseudogen HLA de clase I. Ahora este gen se denomina HFE. Las moléculas clase I también se encuentran fuera del CMH, como el CD1 que puede presentar antígenos no proteicos (como lípidos) a las células T.

La organización genómica de la región clase II (HLA-D) del CMH es más compleja. Las moléculas CMH clase II consisten en un complejo no covalentes de dos cadenas estructuralmente similares, alfa y beta. Ambas cadenas se codifican dentro de CMH. El polimorfismo de las moléculas de HLA clase II resulta de diferencias en la cadena alfa y en la cadena beta que dependen de la isoforma de clase II. Por ejemplo, con HLA-DR la cadena alfa es monomórfica, pero la cadena beta muy polimórfica. Muchos loci codifican cadenas alfa y beta de las proteínas

## **CMH de clase II.**

Los diferentes haplotipos exhiben distinto número (distinta cantidad) de genes y pseudogenes. Las proteínas codificadas por los genes DRA y DRB1 resultan ser HLA-DR1, a DR18. Los productos de los genes A y B3 (si está presente) expresan HLA-DR53 y los genes A y B5 (si está presente) expresan HLA-DR52. Los antígenos HLA-DQ1 a DQ9 se expresan en las glucoproteínas codificadas por los genes DQA1 y DQB1 del grupo DQ. Muchos de los otros genes del grupo DQ son, probablemente, pseudogenes. Se encuentra una formación similar en el grupo génico HLA-DP.

La región CMH de clase III contiene cuatro genes del sistema complemento, que en general se heredan como una unidad llamada complotipo. Existen más de 10 complotipos distintos hereditarios en humanos. Dos de los genes de clase III, C4A y C4B, codifican variantes de la molécula C4. Estas variantes poseen estructuras proteicas y funciones definidas; la molécula C4A (si está presente) porta el que se absorben en los glóbulos rojos de los individuos poseedores del gen.

### **5.3.7.2 Patrones de Herencia:**

Aunque la organización del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) es muy complicada, su herencia sigue los principios genéticos establecidos. Todas las personas poseen dos cromosomas 6 y, por lo tanto, dos haplotipos HLA, uno de cada progenitor. Un haplotipo individual se determina generalmente tipificando a múltiples miembros de la familia de diferentes generaciones y observando que los alelos se heredan juntos. Los productos génicos expresados constituyen el fenotipo, que puede ser determinado por un individuo realizando la tipificación de los antígenos HLA. Como los genes HLA son autosómicos y codominantes, el fenotipo representa la expresión combinada de los dos haplotipos.

### **Encontrar hermanos HLA idénticos:**

Cada hijo recibe una copia del cromosoma 6 y, por lo tanto, un haplotipo CMH, de cada progenitor. Como cada progenitor posee dos copias diferentes del cromosoma 6, hay cuatro combinaciones de haplotipos posibles en los hijos (en ausencia de recombinación). Este patrón de herencia es importante para predecirse los miembros de la familia podrían ser donantes compatibles. La probabilidad de que dos hermanos sean HLA idénticos es del 25%. La probabilidad de que una persona con “n” hermanos tenga por lo menos uno HLA idéntico es de  $1 - (3/4)^n$ . tener dos hermanos eleva la probabilidad al 44% y tres, al 58%. Cualquiera sea el número de hermanos disponibles la probabilidad nunca será del 100% (excepto para gemelos idénticos).

### **Ausencia de antígenos:**

Generalmente, ambas copias de los genes dentro del CMH se expresan como antígenos; sin embargo, en ciertos individuos, solamente se puede identificar un solo antígeno. Esto podría ocurrir si el individuo es homocigoto para el alelo o si expresa antígenos para los que no se disponen de antisueros apropiados (a lo que se refiere como alelo vacío). En instancias excepcionales, la ausencia de un antígeno puede ser ocasionada por un alelo nulo.

Un alelo nulo se caracteriza por sustituciones dentro de la región codificadora del gen que no permite la expresión de una proteína funcional en la superficie de la célula. Esta desactivación de un gen puede causarse por sustituciones, deleciones o inserciones de nucleótidos que llevan a la interrupción prematura de la síntesis del antígeno. Para referirse a los fenotipos, el estado “vacío”, se indica con frecuencia como “x” (para locus A), “y” (para locus B). Para determinar el genotipo correcto se requieren estudios familiares.

### **Entrecruzamiento**

En ocasiones, los genes de la región HLA revelan entrecruzamiento cromosómico, en el cual durante la meiosis o gametogénesis se intercambian segmentos que contienen material

genético ligado. Estas recombinaciones se transmiten entonces a los hijos como haplotipos nuevos. La frecuencia de entrecruzamiento se relaciona en parte con la distancia física entre los genes. Por ejemplo, los loci.

HLA-A, HLA-B y HLA-DR se encuentran muy próximos entre sí, con entrecruzamiento del 0,8%, entre el loci A y B y 0,5% entre los loci B y DR. En los estudios familiares y pruebas de paternidad es preciso tener en cuenta la posibilidad de recombinación.

### **Desequilibrio de Ligamento**

El sistema CMH es tan polimórfico que, teóricamente, el número de fenotipos HLA únicos más grande de la población humana. Además, permanentemente se descubren y caracterizan nuevos alelos. Hasta el año 2004, existían 309 alelos HLA-A, 563 HLA-B, y 368 DRB1. En realidad, existe un sobre-representación de muchos haplotipos comparado con lo que debería esperarse si la distribución de los genes fuera al azar. El fenómeno de desequilibrio de ligamento explica la discrepancia entre la frecuencia de haplotipos esperada y la observada.

La frecuencia esperada de los haplotipos HLA deriva de la multiplicación de las frecuencias de cada alelo. Es así que en los caucásicos, la frecuencia global del gen codificador de HLA A1 es de 0,15 y las del gen codificador de HLA B8, de 0,10; por lo tanto, cabe anticipar que el 1,5% ( $0,15 \times 0,10$ ) de los haplotipos HLA de los caucásicos contiene genes codificadores de HLA-A1 y HLA-B8, si estos se distribuyen al azar. No obstante, la frecuencia real de la combinación A1 y B8 en los caucásicos es del 7%-8%.

Ciertas combinaciones alélicas son más frecuentes en distintos grupos étnicos y constituyen los haplotipos comunes de esas poblaciones. Estos se llaman haplotipos ancestrales por que la herencia parece provenir de un único ancestro en común. El haplotipo ancestral más común en los europeos del norte es el A1, B8, DR3, DQ2, que incluyen regiones de clases I y II. No se sabe si los haplotipos ancestrales representan haplotipos relativamente jóvenes en los cuales todavía no hubo recombinación o si son haplotipos antiguos, resistentes a la recombinación debido a selección.

El desequilibrio de ligamento del sistema HLA es importante en los estudios de paternidad, porque las frecuencias de los haplotipos en la población relevante incrementan la posibilidad de transmisión de ciertas combinaciones génicas con respecto a otras. El desequilibrio de ligamento también influye en la probabilidad de encontrar donantes no relacionados apropiados para transfusiones de plaquetas y trasplantes hematopoyéticos HLA compatibles. (AABB, 2007)

## **5.4 Métodos de detección del sistema HLA:**

Los métodos de detección de los antígenos y alelos HLA pueden dividirse en tres grupos: pruebas celulares, serológicas y moleculares (basadas en ADN). Según la situación clínica, puede preferirse un método particular de detección o tipificación de antígenos HLA. (Ver en Anexos Figura 7)

### **5.4.1 Métodos Celulares:**

En el pasado se empleaban los cultivos linfocitarios mixtos (CML) (o reacciones mixtas – RLM) para identificar las diferencias genéticas en la región de clase II. En las RML se cultivan linfocitos de distintos individuos, que pueden reconocer los antígenos HLA-D extraños y responder multiplicándose. (AABB, 2007).

### **5.4.2 Métodos Serológicos:**

La tipificación serológica es una técnica importante para la identificación de los alelos HLA presentes en una persona puesto que los resultados se obtienen de manera rápida y eficaz, además, de servir como apoyo para pruebas confirmatorias como la PCR SSP en cuanto a HLA. (<http://www.monografias.com>)

El método serológico es más sencillo, económico y rápido para la tipificación HLA; se utilizan antisueros que contienen anticuerpos contra los antígenos leucocitarios humanos a estudiar. Los anticuerpos anti-HLA son altamente específicos para los determinantes estructurales que caracterizan a los diferentes antígenos del sistema HLA. (Arrazola M., 2005).

La Prueba de Microlinfocitotoxicidad puede emplearse para detectar los antígenos HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR y HLA-DQ, se utilizan linfocitos porque es fácil obtenerlos de sangre periférica anticoagulada y, a diferencia de los granulocitos, proporcionan resultados reproducibles. Se colocan sueros HLA de especificidad conocida en microcubetas y se agrega una suspensión de linfocitos. Luego se añade complemento de conejo y, si el monto de anticuerpos fijados a la membrana linfocitaria es suficiente, el complejo de ataque a la membrana activa la cascada del complemento, que lleva a la linfocitotoxicidad. El daño de la membrana celular se detecta mediante colorantes; las células sin anticuerpo adheridos, que no activan el complemento y no experimentan lesión de la membrana, no permiten el ingreso de colorantes vitales, mientras que aquellas con membranas dañadas permeables sí.

Las pruebas serológicas pueden usarse para evaluar muestras séricas y células seleccionadas. Se llevan a cabo en la compatibilidad HLA cruzada, que consiste en examinar el suero de un receptor potencial y linfocitos no fraccionados (o linfocitos T y B fraccionados) de un donante potencial. Una variante de esta técnica, que emplea un reactivo antiglobulínico, se utiliza para incrementar la sensibilidad. En la actualidad se han desarrollado también métodos más sensibles que la prueba convencional. Estas son las técnicas por Citometría de Flujo y la Prueba Cruzada con Globulina Antihumana (AGH), las cuales permiten detectar niveles muy bajos de anticuerpos circulantes, lo que facilita una mejor evaluación de la pareja receptor/donador para el trasplante. Aunque la citometría de flujo es muy sensible, su alto costo no permite todavía su uso rutinario, al menos en nuestro medio. (AAHI, 2007).

### **Técnica descrita:**

El principio de este método se basa en la lisis celular mediada por anticuerpos específicos en presencia de complemento. La muerte celular es un indicador de especificidad común del antígeno y anticuerpo, constituyendo una prueba positiva.

#### **Muestras**

Se utiliza una suspensión de linfocitos obtenidos a partir de sangre periférica con el método de gradiente de densidad, utilizando FycollHypaque (densidad 1.007 g/mL), ajustando su concentración a  $2 \times 10^6$  células /mL.

Los pasos a seguir para la determinación de HLA clase I son:

- ✓ Agregar 1  $\mu$  de linfocitos a cada pozo de la placa, la cual contiene antisueros.
  - ✓ Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente
  - ✓ Agregar 5  $\mu$ l de complemento de conejo
  - ✓ Incubar por 60 minutos a temperatura ambiente.
  - ✓ Agregar 5  $\mu$ l de solución de eosina al 5% PH 7.2-7.4.
  - ✓ Agregar 5  $\mu$ l de formol pH 7.2-7.4.
  - ✓ Dejar reposar al menos 20 minutos.
  - ✓ Colocar cubreobjetos en la placa y leer en Microscopio invertido de contraste de fases
- Informar los resultados de acuerdos a los Estándares internacionales

#### **5.4.3 Métodos Moleculares (Hibridación, Electroforesis, DNA conformacional):**

El uso de métodos moleculares para la tipificación de los alelos HLA clase I y II tienen un papel importante dentro de las técnicas utilizadas en un laboratorio de histocompatibilidad, por ofrecer algunas ventajas en comparación con los métodos serológicos tradicionales: flexibilidad en la resolución, reproducibilidad y mayor precisión. Las ventajas de los métodos de tipificación basados en la reacción en cadena de polimerasa (polymerase chain reaction) han permitido su amplia utilización a tal grado que en algunos centros de trasplantes han reemplazado en su totalidad a los métodos serológicos.

#### **❖ La PCR-SSOP:**

La PCR-SSOP (polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide probe) es la más amplificación específica del locus HLA por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PR), con la subsiguiente hibridación del producto amplificado por medio de sondas de oligonucleótidos de secuencias específicas. La mayor parte del amplio polimorfismo del

sistema HLA resulta de eventos en los cuales pequeñas secciones de nucleótidos de un alelo ( usualmente no más de 100 bases ) son transferidos a otro alelo.

De esta manera, muchas de las secuencias tienden a compartir alelos y no son alelo-específicos, surgiendo el uso de sondas de secuencias específicas. Para estudiar los alelos se requiere un juego de sondas y el patrón de reactividad de estas sondas es lo que permite diferenciar los alelos HLA. El sistema de detección utilizado consiste en marcar las sondas con digoxigenina y la detección de la hibridación de estas sonda. Las secuencias complementaria presente en el producto amplificado del alelo HLA de un individuo se realizara adicionando un anticuerpo antidigoxigenina conjugado con fosfatasa alcalina, el cual utiliza CSPD como sustrato quimioluminiscente y la luz emitida es detectada por autorradiografía.

#### **Técnica descrita:**

##### **PCR-SSOP**

El sistema de detección utilizado consiste en marcar las sondas con digoxigenina y la detección de la hibridación de estas sondas. La secuencia complementaria presente en el producto amplificado del alelo HLA de un individuo se realizará adicionando un anticuerpo antidigoxigenina conjugado con fosfatasa alcalina, el cual utilizan CSPD como sustrato quimioluminiscente y la luz emitida es detectada por autorradiografía.

##### **Muestra**

Se utiliza DNA obtenido de sangre periférica recolectada en tubos con EDTA.

Esta prueba puede ser realizada en un periodo de 3 a 4 horas dependiendo del nivel de automatización utilizado.

El número de sondas utilizadas es de 30 a 70 por locus. A esta técnica se le considera de mediana resolución dado que la tipificación inicial, a diferencia de las pruebas de SSP-PCR, es mayor que la tipificación a nivel antígeno y en ocasiones provee tipificación a nivel alélico.

La técnica SSP puede ser utilizada para proveer resolución a nivel alélico.

#### **Los pasos de esta técnica son:**

- ✓ Obtención del DNA con una pureza mayor (relación entre la absorbancia del DNA y de las proteínas).
- ✓ Preparar mezclas de reacción
- ✓ Amplificar las mezclas de reacción en un termociclador.
- ✓ Transferir el producto amplificado a los pozos o tiras de nitrocelulosa que contienen las sondas de oligonucleótidos inmovilizadas
- ✓ Hibridar el DNA con las sondas de oligonucleótidos.
- ✓ Lavar los pozos o las membranas con buffer astringentes a fin de eliminar las sondas no hibridadas.
- ✓ Desarrollo de la reacción química de acuerdo con las sustancias químicas unidas a las cadenas del DNA. Los dos sistemas más comunes de detección son las enzimas que producen color y los compuestos quimioluminiscentes

#### Interpretación de los resultados

Debido al gran número de sondas utilizadas en la tipificación por SSO, la mayoría de los proveedores proporcionan el software para facilitar el análisis

#### ❖ PCR-SSP:

La especificidad de los alelos HLA amplificados por PCR-SSP (polymerase chainreaction sequence specific priming) se determina por los iniciadores (primers). Cada par de iniciadores utilizados amplifica uno o varios alelos. El número total de iniciadores utilizados deberá amplificar todos los alelos conocidos para el locus a determinar: dependiendo de su selección, la PCR-SSP puede ser baja, mediana o alta resolución.

Esta técnica requiere de varios controles. Cada pozo contiene un par de iniciadores control que reacciona con una secuencia de DNA diferente a las regiones polimórficas HLA, y que sirve como control interno para todo el proceso de amplificación. Un segundo control, denominado “tubo abierto”, contiene todos los reactivos, excepto el DNA, este se deja abierto durante el proceso de amplificación y si resulta positivo indica contaminación.

Una prueba exitosa muestra la banda control en cada reacción negativa y la banda del tamaño apropiado en los pozos positivos. Si una reacción de amplificación no muestra bandas después de la electroforesis, el proceso de amplificación falló, lo que puede deberse al control inadecuado de la temperatura del bloque del termociclador, cantidad suficiente de DNA o falla al adicionar la Taq polimerasa. Esta técnica no es recomendable para grandes volúmenes de trabajo, siendo la limitante el número de termocicladores y unidades de electroforesis. Sin embargo para altos volúmenes de trabajo, la técnica PCR-SSO se considera más práctica.

Los métodos que se utilizan para la detección del sistema HLA se dividen en tres grupos: pruebas celulares, serológicas y pruebas moleculares (basadas en ADN). Las que han venido avanzando y mejorando en el transcurso de la historia para tipificación específica de los antígenos y alelos HLA. (Arrazola M. 2005).

#### **Técnica descrita:**

##### **PCR-SSP**

Cada par de iniciadores utilizados amplifica uno o varios alelos. El número total de iniciadores utilizados deberá amplificar todos los alelos conocidos para el locus a determinar: Dependiendo de su selección, la PCR-SSP puede ser de baja, mediana o alta resolución.

Esta técnica requiere varios controles.

Cada pozo contienen un par de iniciadores control que reacciona con una secuencia de DNA diferente a las regiones polimórficas HLA, y que sirve como control interno para todo el proceso de amplificación. Un segundo control, denominado “tubo abierto”, contiene todos los reactivos, excepto el DNA. Éste se deja abierto durante el proceso de amplificación y si resulta positivo indica contaminación.

A continuación se enumeran los pasos de esta técnica:

- ✓ Obtención del DNA con una pureza de 1.7- 1.9 (relación entre la absorbancia del DNA y de las proteínas).
- ✓ Preparar las mezclas de reacción.
- ✓ Amplificación de las mezclas de reacción en el termociclador.
- ✓ Realizar electroforesis en un gel de agarosa.

- ✓ Analizar e interpretar los resultados

Una prueba exitosa muestra la banda control en cada reacción negativa y la banda de tamaño apropiado en los pozos positivos. Si una reacción de amplificación no muestra bandas después de la electroforesis, el proceso de amplificación falló, lo que puede deberse al control inadecuado de la temperatura del bloque del termociclador, cantidad insuficiente de DNA o falla al adicionar la Taq polimerasa

Esta prueba se realiza en un tiempo de tres y media a cuatro horas, con un juego de iniciadores.

Se presentan ambigüedades a nivel alélico en 5 a 10 % de las tipificaciones dependiendo de la población en estudio. La principal desventaja de la técnica es la necesidad de utilizar gran número de par de iniciadores para realizar la tipificación de un solo paciente, el cual ocupa un termociclador (96 pozos), por lo que no es recomendable para grandes volúmenes de trabajo siendo la limitante el número de termocicladores y las unidades de electroforésis. Para alto volumen de trabajo, la técnica PCR-SSO se considera más práctica.

SSP puede ser utilizado para complementar la técnica de SSO, dando resolución a nivel alélico cuando sea necesario

## **5.5 Importancia del sistema HLA en la actualidad.**

Su descubrimiento ha permitido a la medicina dar un salto cualitativo en las posibilidades de éxito de un trasplante, pudiendo comprender mejor el fenómeno del rechazo y de la enfermedad del injerto contra el receptor y trasplantar con menos inconvenientes, según criterios de compatibilidad

Cuya característica fundamental es su alto grado de polimorfismo. Este polimorfismo conduce a diferentes especificidades de ligamiento de péptidos por diferentes alelos y podría contribuir a diferencias en la respuesta inmunitaria entre individuos, jugando un papel importante en los trasplantes de órganos y la susceptibilidad a ciertas enfermedades.

la determinación de anticuerpos anti-HLA es una prueba que en los países más desarrollados se utiliza de manera cotidiana en la evaluación periódica de los pacientes multitransfundidos o inscritos en listas de espera de órganos provenientes de donadores fallecidos, y su importancia es tal, que dicha prueba es considerada como un parámetro importante en la asignación de los órganos, ya que permite establecer criterios de idoneidad con respecto a las posibilidades de éxito del trasplante basadas en conocer si el paciente presenta en su suero anticuerpos que favorezcan el rechazo.

También el sistema HLA hoy en día es de gran importancia legalmente ya que el polimorfismo del Sistema HLA permite realizar estudios de paternidad, ya que es muy improbable que dos personas no relacionadas genéticamente posean los mismos antígenos HLA. Su poder de discriminación supera el de otros sistemas de proteínas. También en la actualidad es importante de forma Evolutivas ya que el polimorfismo y el desequilibrio de ligamiento del Sistema HLA sirven como herramienta para relacionar filogenéticamente grupos poblacionales humanos, alelos y loci genéticos entre intra e interespecies.

## VI. CONCLUSIONES

1. La función principal del sistema HLA en los trasplante es diferenciar lo propio de lo ajeno ya que los antígenos HLA propios presentan antígenos extraños al linfocito T e inician de este modo la respuesta inmune. Es este reconocimiento el que puede llevar a determinar el éxito o fracaso de un trasplante.
2. Existen tres tipos de antígenos los de clase I los de clase II y los de clase III, los de clase I los constituyen los locus HLA-A-B-C que se expresan en todas las células nucleadas y presentan antígenos intracelulares que son reconocidos por los linfocitos T-CD8(citotóxicos) a través del TCR, los de clase II los constituyen HLA-DP, -DQ y -DR., Su distribución tisular está prácticamente limitada a células del sistema inmune: linfocitos B, macrófagos, linfocitos T activados, y las de clase III codifica moléculas que participan en la respuesta inmune, pero no comparten las funciones o características del MHC estas moléculas son las del complemento C2, C4, factor B, proteínas de choque térmico (HSP) Y TNF.
3. Las pruebas celulares, serológicas y moleculares se utilizan en la tipificación HLA para determinar el grado de compatibilidad que exhibe el receptor donador, detectar en el receptor anticuerpos anti-HLA clínicamente relevantes dirigidos en contra de las especificidades antigénicas de su potencial donador, conocer el grado de aloinmunización humoral del paciente (sensibilización) y conocer la especificidad del anticuerpo anti HLA presente para evaluar el estatus inmunológico del paciente y la selección del donador.
4. La Importancia del sistema HLA en la actualidad ha sido de gran impacto, ya que con los avances médicos se ha podido realizar mejoras en trasplantes de órganos y trasplantar con menos probabilidad de que el receptor vaya a presentar un rechazo también en la actualidad el HLA es de gran importancia de forma legal ya que el polimorfismo del Sistema HLA permite realizar estudios de paternidad, ya que es muy

improbable que dos personas no relacionadas genéticamente posean los mismos antígenos HLA.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Arrazola M. (2005). Tipificación de los alelos HLA clase I y II, Revista Médica Instituto Mexicano Seguro Social 2005; 43 (Supl 1): 95-97.
2. Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB); Manual Técnico 15a Ed. 2007.
3. Carrea R. Revista Medicina Órgano de la sociedad Argentina de investigación clínica 1997; Vol. 39.
4. Del Pozo A. Sistema HLA, Manual técnico. Asociación Argentina de Hematología e Inmunohematología (AAHI); 2007 15a ed.
5. Martínez J. (2013). Anticuerpos, antígenos leucocitarios humanos y biomoduladores en los efectos adversos agudos de las transfusiones. Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), México, D.F. Gaceta Médica de México. 2013; 149:81-8.

### REFERENCIAS ELECTRONICAS

1. <https://bloodbanksandbeyond.wordpress.com/anticuerpos-irregulares-su-...>  
Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina.
2. <https://books.google.com.ni/books?id=5sTBZdt798YC>
3. <http://centrodeartigo.com/articulos-de-todos-los-temas/article 30166.html>
4. <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2005/ims051e.pdf>
5. <http://www.monografias.com/trabajos12/arthla/arthla.shtml#ixzz3RAw7lh6J>  
Frecuencias génicas del sistema HLA clase I y II en una población de la ciudad de Bogotá d.c.
6. <http://tratado.uninet.edu/c080301.html>
7. [www.cancer.org](http://www.cancer.org) ›... › Otros tratamientos › fragmentado. Compatibilidad del donante para el al trasplante.
8. [www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method...](http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method...) Biología del sistema de antígenos leucocitarios humanos.
9. [www.indt.edu.uy/material/HLA05\\_web.pdf](http://www.indt.edu.uy/material/HLA05_web.pdf)

# ANEXOS

## GLOSARIO

**Afinidad.** Magnitud que mide la fuerza de unión entre un determinante antigénico (epítopo) y el punto de unión de un anticuerpo (paratopo).

**Aglutinación:** forma de reacción antígeno-anticuerpo en la cual son necesarios anticuerpos solubles divalentes o polivalentes y antígenos celulares o particulados.

**Agretopo:** porción del antígeno que interacciona con la molécula de HLA.

**Alelo:** cada uno de los estados distintos que puede presentar un gen en un mismo locus en un cromosoma

**Aloantígenos.** Estructura antigénica determinada genéticamente.

**Alogénico.** Relación genética de desigualdad entre dos individuos de la misma especie. Usado para describir fenotipos genéticamente diferentes presentes en individuos de la misma especie, como los antígenos de los grupos sanguíneos o los alotipos de las inmunoglobulinas.

**Aloinjerto.** Injerto entre dos individuos de la misma especie, pero genéticamente diferente.

**Alotipo.** Proteína codificada por un alelo que puede ser reconocida como un antígeno por otro miembro de la misma especie.

**Alotipos.** Producto proteico de un alelo que puede ser detectado como antígeno por otro miembro de la misma especie. En otro sentido, reflejan pequeñas diferencias, constantes entre individuos de la misma especie, en la secuencia de aminoácidos de inmunoglobulinas que por lo demás son similares. Los determinantes alotípicos se sitúan en la región constante de las cadenas pesadas y ligeras.

**Alotrasplante.** Trasplante entre dos miembros genéticamente diferentes de la misma especie.

**Autoanticuerpo.** Anticuerpo generado. que reacciona contra antígenos del huésped donde fue generado.

**Autoinmunidad.** Reconocimiento y reacción inmunitaria frente a los tejidos propios del individuo.

**Avidez.** Fuerza de unión real entre un antígeno y su correspondiente anticuerpo, que depende tanto de la afinidad entre los epítomos y los paratopos como de la valencia del antígeno y del anticuerpo.

**Beta-2-microglobulina.** Polipéptido que forma parte de algunas proteínas de membrana, entre las que se encuentran las moléculas MHC de clase I.

**CPA (células presentadoras de antígenos).** Diversos tipos de células que exponen los antígenos de tal forma que puedan ser reconocidos por los linfocitos.

**Desequilibrio de ligamiento.** Situación en la que dos genes se encuentran asociados en un mismo individuo con una frecuencia mayor de la predicha por el producto de sus frecuencias individuales en la población.

**Epítopo.** Las partes del antígeno que contactan con el sitio de unión antigénica del anticuerpo o del receptor de las células T.

**Fenotipo.** Las características que expresa un individuo (comparar genotipo).

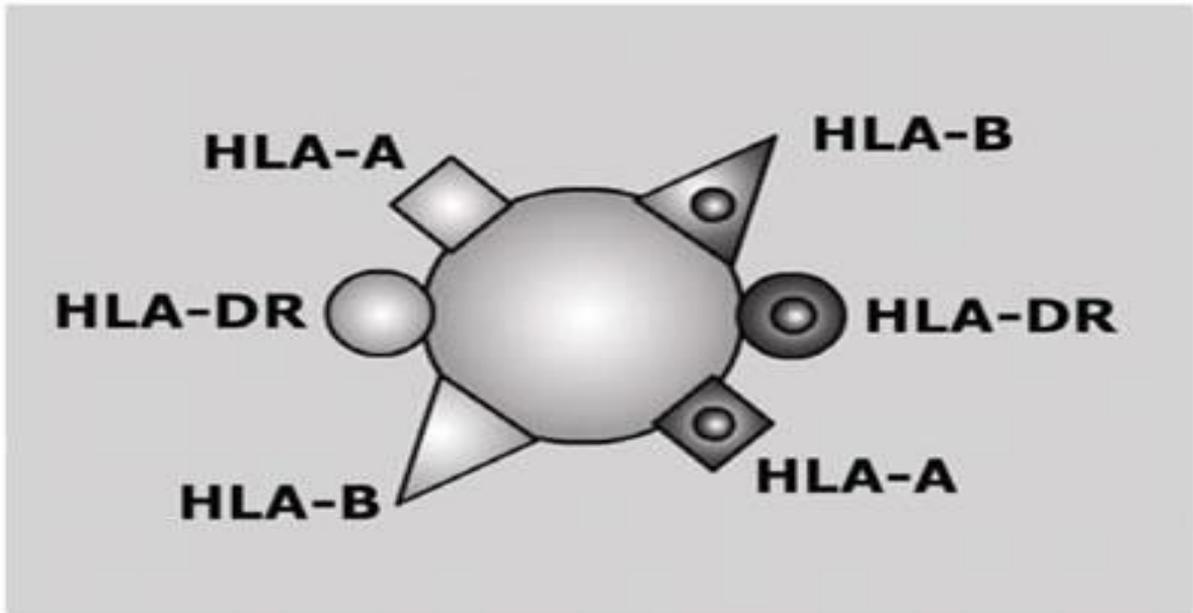
**Genotipo.** El material genético heredado de los progenitores; solo se suele expresar parte del mismo.

**Haplotipo.** Conjunto de determinantes genéticos situado en uno de los cromosomas.

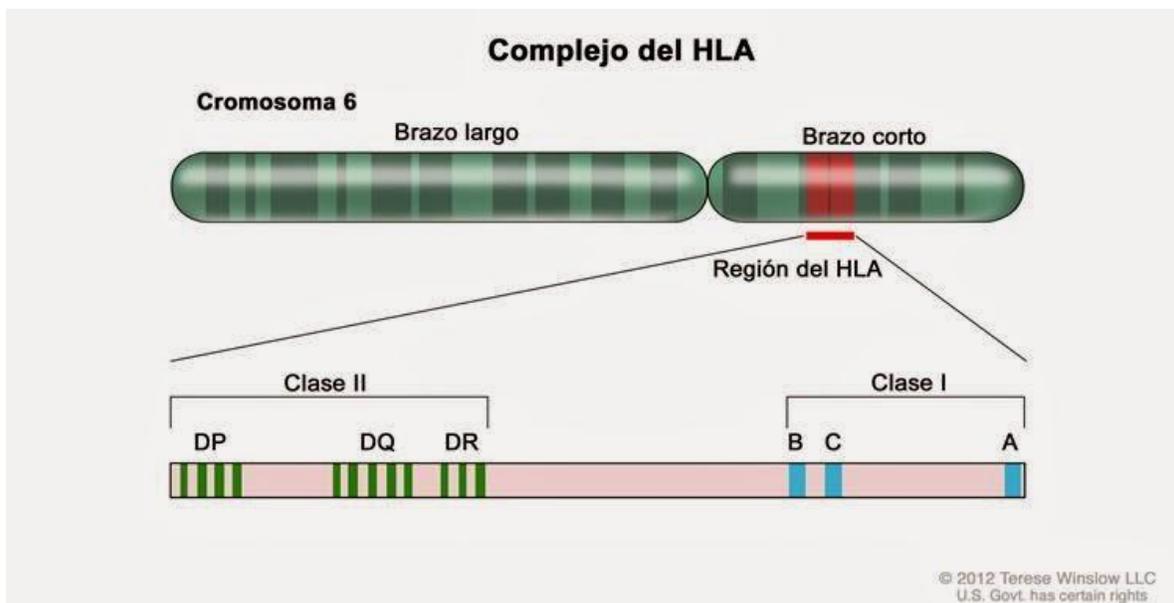
## VIII. ANEXOS

### FIGURAS

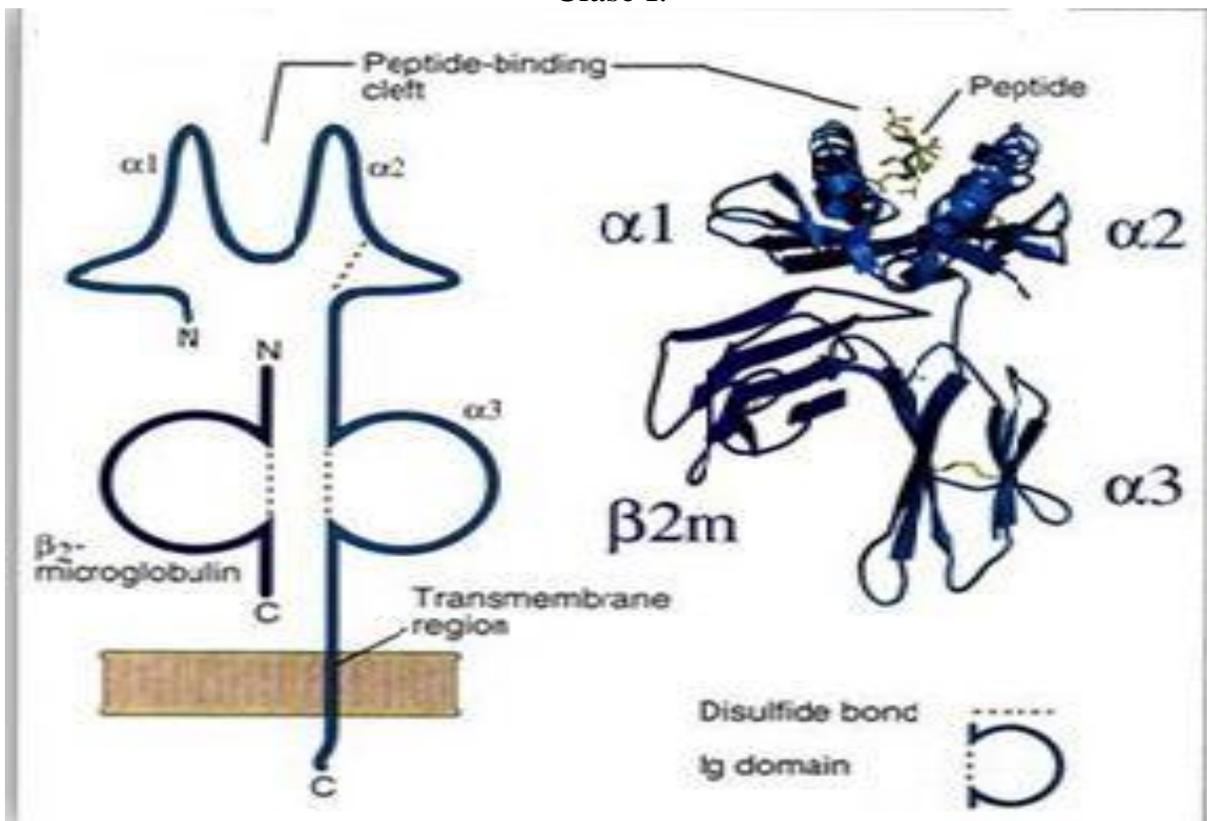
**Figura 1. Esquema representativo de las proteínas del complejo de Histocompatibilidad (HLA) en la superficie celular.**



**Figura 2. Representación Esquemática de la expresión genética**



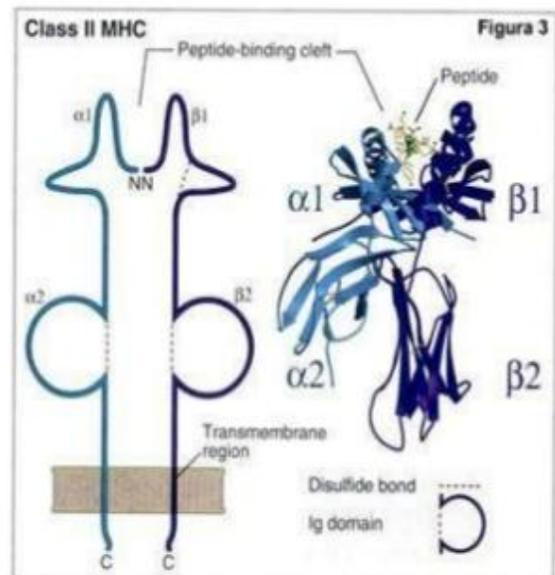
**Figura 3.** Esquema representativo de la Estructura de los antígenos HLA Clase I.



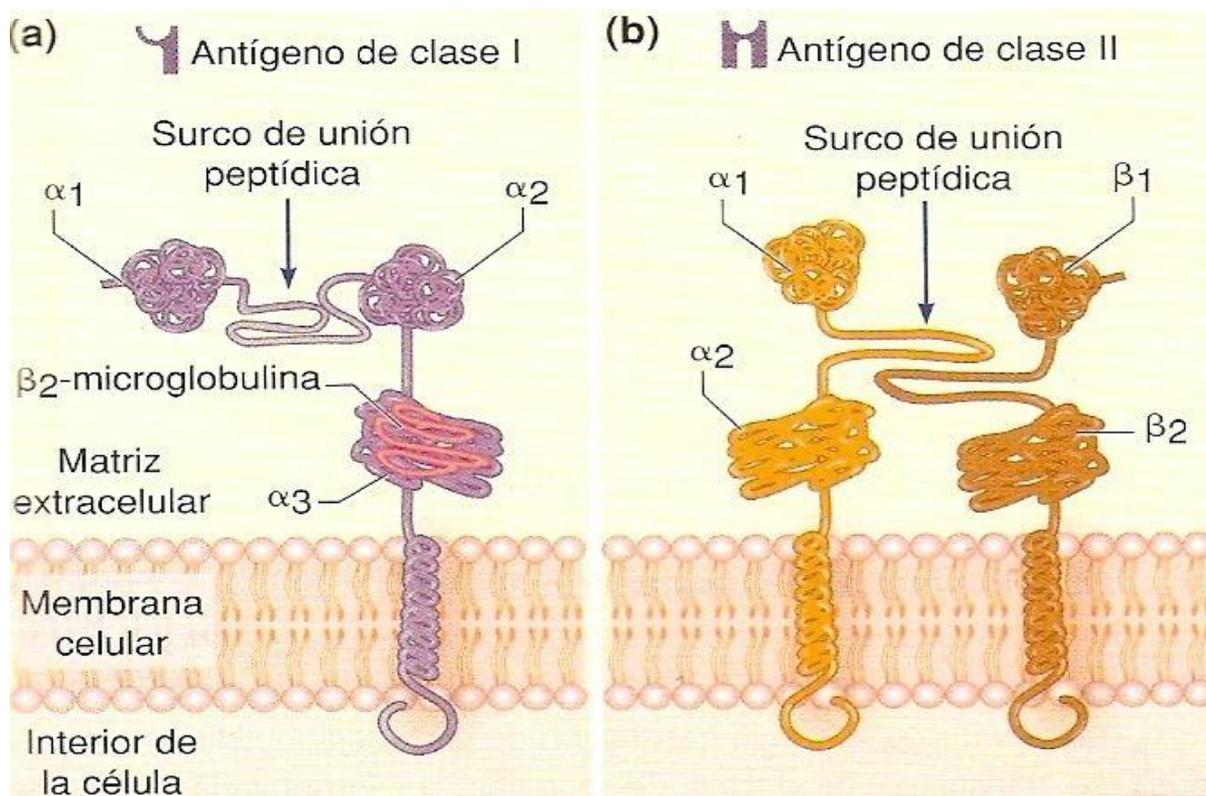
**Figura 4.** Esquema representativo de la Estructura de los antígenos HLA Clase II.

## MOLÉCULA DEL MHC CLASE II

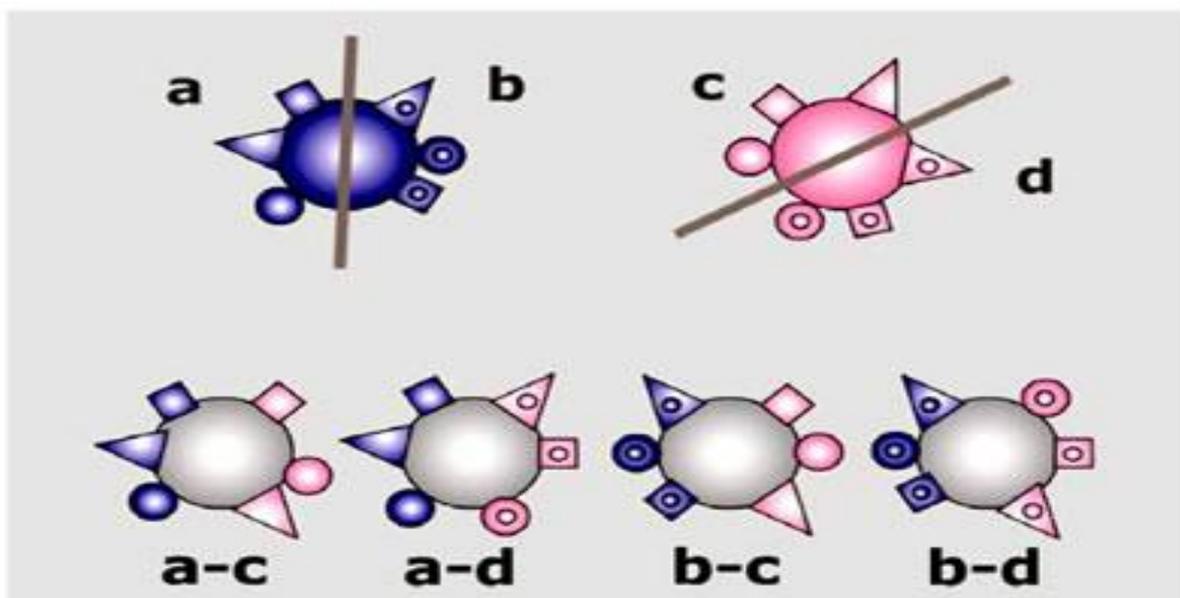
- Cadena  $\alpha$  (33 kDa)
  - Dominios globulares:  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$
- Cadena  $\beta$  (29 kDa)
  - Dominios globulares:  $\beta_1$  y  $\beta_2$



**Figura 5. Representación esquemática de la Estructura de los antígenos Codificados por genes del CMH clase I y clase II.**



**Figura 6. Esquema gráfico que explica la Herencia HLA.**



Los hijos podrán heredar cualquiera de las cuatro del material genético transferido por los padres en base al sistema HLA.

# TIPIFICACION DE HLA MOLECULAR

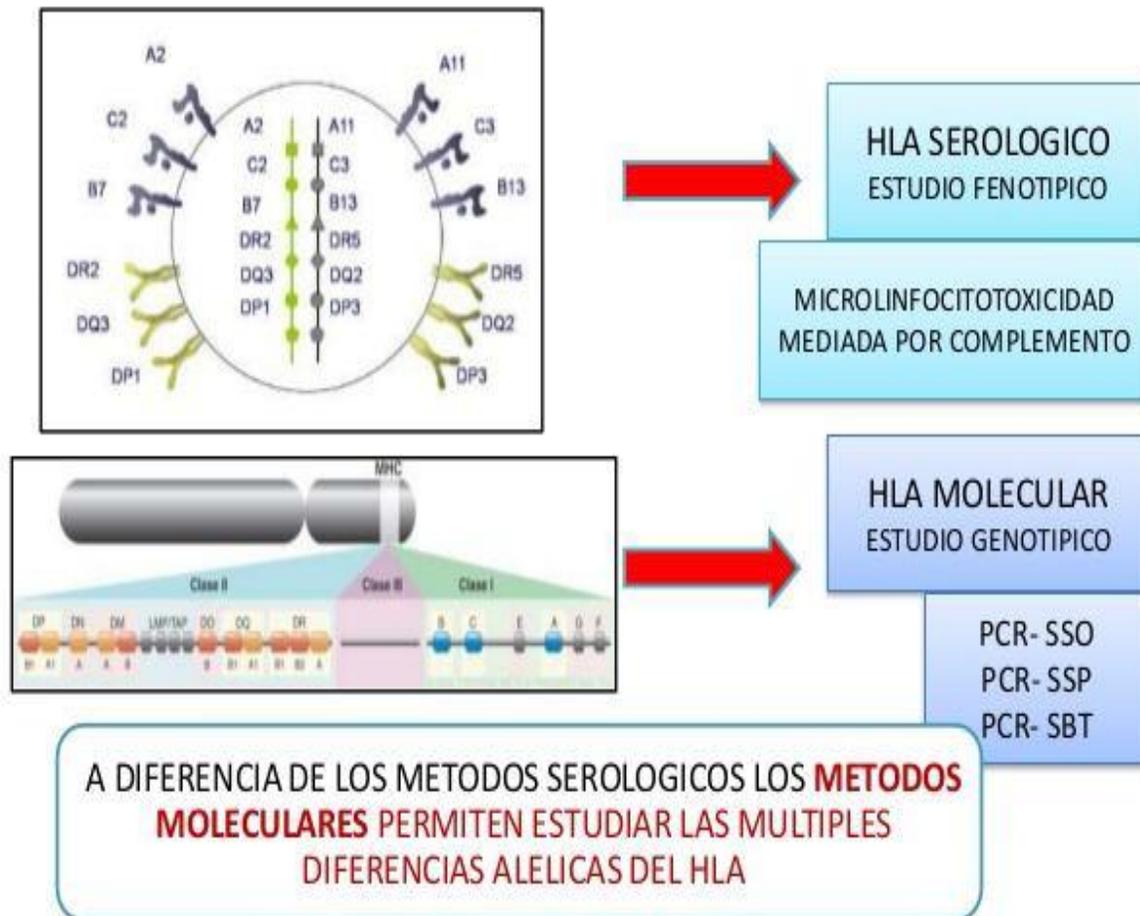


Figura n 7. Representación esquemática de los métodos.

## **ENTREVISTA**

Esta entrevista fue realizada al Pediatra Nefrólogo: Cristhiam Urbina del hospital la mascota el cual está vinculado a los trasplantes de riñón que se realizan en este hospital ya que es el único hospital a nivel nacional del ministerio de salud (MINSA) que realiza trasplante de riñón esta entrevista se realizó con el propósito de reforzar nuestro trabajo investigativo, en la cual le realizamos unas preguntas y él nos contestó lo siguiente.

### **1. ¿Qué tipos de exámenes realizan tanto al donador como al receptor para poder hacer un trasplante?**

Los exámenes que se hacen al donante al familiar mamá o papa primero asegurarse que están sanos, se les realiza un chequeo completo que va desde biometría Hemática completa, pruebas de química sanguínea, ultrasonidos, valoraciones cardiológicas, odontológicas, ginecológicas si es de sexo femenino, todo esto para saber que estén sano o sana. Porque si el donante tiene algún tipo de enfermedad no se puede hacer trasplante. Por ejemplo; Si es diabético, hipertenso o tiene piedra en los riñones, o con alguna enfermedad positiva, no puede ser donador.

Una vez que se sabe que está sano y los exámenes están bien, se hace la prueba de compatibilidad que es la HLA, para saber si es compatible el donante con el receptor, porque a veces se da la sorpresa que el papá del niño o niña no resulta ser el papá al momento de realizarse la prueba de compatibilidad.

La prueba de compatibilidad se realiza para saber cuánto grado de compatibilidad comparte, se supone que el niño o niña tiene que tener 50% de compatibilidad del papá y mamá, es aceptable un rango del 30% como mínimo de compatibilidad o más preferiblemente.

### **2. ¿Dónde se hacen los exámenes?**

Anteriormente se estaban enviando a Costa Rica o Panamá, pero ahora actualmente, con el proyecto de ayuda de Italia, la fundación Family Nefrótico, estos estudios se van a empezar a realizar en este centro.

De hecho se mandó a preparar a un técnico del laboratorio de la UNAN-MANAGUA a Puerto Rico, lo financió dicha fundación, pero esa persona quedó mal y no continuó con el estudio, se le cedió el lugar a otra persona que se está preparando en el estudio para realizar las pruebas de compatibilidad en este centro.

### **3. ¿Cuánto cuesta los exámenes?**

Varía porque hay poca demanda, ya que los exámenes de HLA son caros, se tiene entendido que en Costa Rica estos exámenes tienen un costo de 250-300 dólares. Se toman las pruebas en un privado y se mandan a Costa Rica, desde ahí ya incurren gastos.

### **4. ¿Cuáles son los requisitos de los pacientes que necesitan realizarse un trasplante?**

Por ejemplo si un paciente tiene VIH Positivo o Hepatitis B Positivo, o una enfermedad crónica o cardiopatías que comprometa la vida tanto de él y su donante, no se debe realizar el individuo tiene que estar sano.

### **5. ¿Donde se realizan estos trasplantes?**

A nivel del Ministerio de Salud, el Hospital la Mascota es el único que lo realiza, con donantes vivos, este centro lleva alrededor de 43-44 pacientes trasplantados solo de riñón en un lapso de 9- 10 años, la meta es llegar a más pacientes trasplantados cada año. El Hospital posee un equipo de trasplantes conformado por urólogos, cirujanos de trasplantes, cirujanos generales, equipo de nefrología y enfermería. En este hospital se hacen y estamos a la espera que se dé la señal para comenzar los trasplantes de donaciones cadavéricas.

A nivel de Ministerio de Salud solo trasplantes de riñón se ha llevado a cabo.