



# Los nuevos conocimientos sobre las moléculas HLA de clase II y una mejor asignación de los órganos para trasplante

M. J. Torres y J. C. Rodríguez Pérez

Unidad de Investigación. Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín.

El rechazo de un órgano trasplantado es un proceso complejo que implica tanto a la rama celular como a la rama humoral de la respuesta inmune. Las principales dianas de la respuesta inmunitaria frente al injerto son las moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad (HLA), y el reconocimiento de dichas moléculas es el suceso clave para el inicio del rechazo. El papel de las moléculas HLA en este contexto es doble, según la hipótesis de Lechler y Batchelor<sup>1</sup>: por un lado, reconocen los antígenos del donante que han sido procesados y presentados como péptidos unidos a las moléculas HLA del receptor (vía indirecta); por otro, reconocen moléculas HLA enteras presentes en la células presentadoras de antígenos del donante (vía directa).

Los informes sobre la no compatibilidad HLA en el trasplante renal utilizan mayoritariamente la supervivencia del riñón trasplantado como objetivo a estudiar, además de la del paciente. Dado que tanto la supervivencia a un año del injerto como del paciente exceden del 85% en la mayoría de los centros, se necesitan otras medidas del resultado. El curso clínico del trasplante renal, reflejado por el número de rechazos agudos, cantidad de terapia inmunosupresora y coste de hospitalización, también se ha visto influido negativamente por la incompatibilidad HLA<sup>2</sup>. La relación coste/beneficio de los trasplantes HLA compatibles ha sido establecida, encontrándose significativa en el primer año del trasplante en términos de una menor necesidad de tratamiento antirrechazo y de diálisis post-trasplante<sup>3</sup>.

La relevancia de la compatibilidad HLA en la mejora de los resultados del trasplante renal ha sido debatida ampliamente, desde que se observó que los receptores que representaban anticuerpos IgG frente a las especificidades del donante tenían una mayor probabilidad de sufrir un rechazo hiperagu-

do si se realizaba el trasplante<sup>4,5</sup>. Hasta el día de hoy, se han realizado numerosos trabajos que demuestran que la supervivencia del injerto, de cadáver o de vivo, disminuye al aumentar el número de incompatibilidades HLA<sup>6-9</sup>.

## DEFINICIÓN DE LA COMPATIBILIDAD HLA

Los métodos para el tipaje de las especificidades HLA fueron desarrollados cuando todavía se desconocía el número de genes del sistema HLA humano. Los primeros trasplantes se llevaron a cabo con un conocimiento rudimentario de la compatibilidad entre donante y receptor. Con el desarrollo de las técnicas de tipaje para las moléculas HLA-DR y -DQ, a finales de la década de los 70, se puso pronto de manifiesto que la incompatibilidad en las especificidades DR tenían un mayor efecto sobre el resultado del trasplante que las A o B<sup>10,11</sup>. Se acepta que esta diferencia refleja en parte el papel específico de las moléculas DR en la presentación antigénica, ya que las especificidades DR son más capaces de iniciar una respuesta inmunitaria que las A o las B.

El polimorfismo de los antígenos HLA ha sido identificado a través de talleres internacionales de histocompatibilidad. El Comité de Nomenclatura HLA de la OMS denomina especificidades a los productos polimórficos de los genes HLA, reflejando su definición original, realizada por métodos serológicos. Los polimorfismos que se detectan en el DNA mediante técnicas de amplificación génica y secuenciación se denominan alelos. Hasta 1991 el polimorfismo se definía por métodos serológicos; a partir de entonces comenzó la descripción de alelos, reflejando el avance de las técnicas de biología molecular. Existen muchos más alelos que especificidades HLA, y algunos alelos no tienen una especificidad equivalente, ya que el polimorfismo en el DNA no implica siempre un cambio en la secuencia de aminoácidos de la proteína.

A nivel serológico, algunas especificidades tienen en común secuencias de aminoácidos y conforma-

**Correspondencia:** Dr. J. C. Rodríguez Pérez  
Unidad de Investigación  
Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín  
Barranco de la Ballena, s/n.  
35030 Las Palmas de Gran Canaria

ciones moleculares, que dan lugar a epítomos antigénicos. Algunos anticuerpos pueden reaccionar con dos o más de estos epítomos, que constituyen lo que se denomina un grupo de reacción cruzada (CREG, *cross-reacting group*), o especificidades públicas.

El uso de técnicas de biología molecular ha mejorado significativamente la calidad del tipaje HLA, y los argumentos de que los métodos de tipaje son ineficientes, así como negar cualquier beneficio de la compatibilidad, no se sostienen actualmente. El resultado del trasplante renal ha sido evaluado con respecto a la compatibilidad receptor/donante en cada uno de estos niveles de polimorfismo (especificidades, CREGs y alelos). Existen numerosos estudios que han demostrado la ventaja de los métodos moleculares de tipaje HLA en el trasplante renal<sup>6,12,13</sup>. A menudo la tecnología utilizada para definir el polimorfismo HLA está basada en métodos de biología molecular, y los datos alélicos resultantes son reducidos a las especificidades correspondientes, con la consiguiente pérdida de calidad de la información. Esto refleja el proceso de asignación, que normalmente sigue utilizando el nivel de especificidad.

Aunque la compatibilidad a nivel de alelos HLA podría mejorar la supervivencia a largo plazo, la gran heterogeneidad del sistema HLA haría que sólo unos pocos riñones fueran compatibles. A la inversa, algunos riñones de cadáver trasplantados han mostrado una buena supervivencia a largo plazo a pesar de una compatibilidad pobre<sup>14</sup>. Esta aparente contradicción se debe probablemente al hecho de que la mayoría de los alelos presentan una similitud del 95% en su secuencia y estructura, y las diferencias antigénicas están determinadas por un número relativamente restringido de aminoácidos, responsables de la conformación del sitio de unión del péptido. Los estudios de la secuencia de los HLA de clase I y II han demostrado que alelos distintos codifican residuos similares, mientras que antígenos serológicamente idénticos pueden definir en sus nucleótidos y aminoácidos.

#### NUEVA APROXIMACIÓN A LA COMPATIBILIDAD HLA

En los últimos años se han llevado a cabo algunos estudios sobre la compatibilidad HLA en el trasplante renal centrados en la estructura tridimensional de estas moléculas. De esta manera, se ha podido identificar una serie de aminoácidos, localizados en el sitio de unión del péptido de la molécula HLA-DR, que correlacionan con la incidencia de rechazo en los trasplantes incompatibles para dichos resi-

duos<sup>14,15</sup>, así como en la producción de anticuerpos frente a los antígenos de clase II del donante<sup>14</sup>.

Takahara y cols.<sup>16</sup> realizaron en 1996 un estudio retrospectivo de 119 trasplantes renales de cadáver, cuyos donantes y receptores fueron tipados para el gen HLA-DRB1 medidas técnicas de PCR. Se analizó la correlación entre la compatibilidad HLA de donante y receptor y el número de episodios de rechazo a los 6 meses del trasplante. El tipaje molecular fue traducido a aminoácidos con el fin de determinar el número de diferencias existenciales en las zonas de la molécula DR que constituyen el sitio de unión del péptido: la hélice  $\alpha$  y la lámina plegada  $\beta$  (fig. 1). Encontraron que las diferencias con respecto a dichos aminoácidos (es decir, la frecuencia de incompatibilidades) era significativamente mayor en el grupo de pacientes que presentaron rechazo, e identificaron además los aminoácidos que se hallaban implicados en estos episodios con más frecuencia.

Este grupo propuso en 1997 un cambio en el criterio de selección de los posibles receptores para un donante dado, basado en este nuevo enfoque<sup>15</sup>. A partir de los aminoácidos identificados en el trabajo anterior como relacionados con los episodios de rechazo, establecen las combinaciones alélicas del gen DRB1 permisibles e inmunogénicas. De esta forma, los alelos distintos que codifiquen los mismos aminoácidos en las mismas posiciones serían compatibles, mientras que los que codifiquen aminoácidos distintos serían incompatibles aunque pertenezcan a la misma especificidad (tabla I).

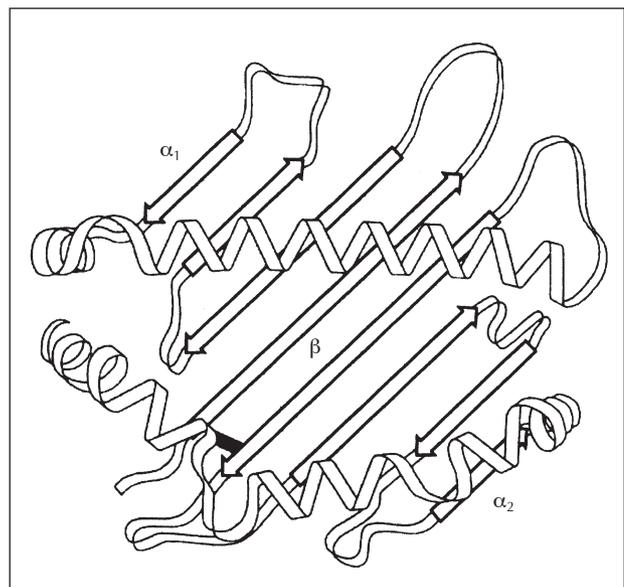


Fig. 1.—Sitio de unión del antígeno de la molécula HLA-DR.

**Tabla I.** Sustituciones de aminoácidos en las posiciones 26, 28, 30, 31, 38, 57 y 60 del gen HLA-DRB1

	26	28	30	31	38	57	60		26	28	30	31	38	57	60		26	28	30	31	38	57	60
DRB1* 0101	L	E	C	I	V	D	Y	DRB1* 0407	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1401	F	D	Y	F	V	A	H
DRB1* 0102	L	E	C	I	V	D	Y	DRB1* 0408	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1402	F	<b>E</b>	Y	F	V	<b>D</b>	<b>Y</b>
DRB1* 0103	L	E	C	I	V	D	Y	DRB1* 0409	F	D	Y	F	V	<b>S</b>	Y	DRB1* 1403	F	<b>E</b>	Y	F	V	<b>D</b>	<b>Y</b>
DRB1* 1501	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 0410	F	D	Y	F	V	<b>S</b>	Y	DRB1* 1404	F	D	Y	F	V	A	H
DRB1* 1502	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 0411	F	D	Y	F	V	<b>S</b>	Y	DRB1* 1405	F	D	Y	F	V	<b>D</b>	<b>Y</b>
DRB1* 1503	F	D	<b>H</b>	F	V	D	Y	DRB1* 1101	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1406	F	<b>E</b>	Y	F	V	<b>D</b>	<b>Y</b>
DRB1* 1601	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1102	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1407	F	D	Y	F	V	A	H
DRB1* 1602	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1103	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1405	F	D	Y	F	V	<b>D</b>	<b>H</b>
DRB1* 0301	Y	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1104	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 0701	F	E	L	F	V	V	S
DRB1* 0302	<b>F</b>	<b>E</b>	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1201	L	E	H	F	L	V	S	DRB1* 0702	F	E	L	F	V	V	S
DRB1* 0401	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1201	L	E	H	F	L	V	S	DRB1* 0801	F	D	Y	F	V	S	Y
DRB1* 0402	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1301	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 0802	F	D	Y	F	V	<b>D</b>	<b>Y</b>
DRB1* 0403	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1302	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 0803	F	D	Y	F	V	S	Y
DRB1* 0404	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1303	F	D	Y	F	V	<b>S</b>	Y	DRB1* 0804	F	D	Y	F	V	<b>D</b>	<b>Y</b>
DRB1* 0405	F	D	Y	F	V	<b>S</b>	Y	DRB1* 1304	F	D	Y	F	V	<b>S</b>	Y	DRB1* 0901	Y	H	G	I	V	V	S
DRB1* 0406	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1305	F	D	Y	F	V	D	Y	DRB1* 1001	L	E	R	V	A	D	Y

A: alanina; C: cisteína; D: ácido aspártico; E: ácido glutámico; F: fenilalanina; G: glicina; H: histidina; I: isoleucina; L: leucina; R: arginina; S: sérina; V: valina; Y: tirosina.

Tomado de Sada y cols.<sup>15</sup>.

Las letras en negrita reflejan diferencias de aminoácidos entre alelos genéticamente compatibles.

Otra aproximación a la compatibilidad HLA basada en la proteína y no en el gen fue la propuesta por Busson y cols., en 1998<sup>17</sup>. En este caso los autores se apoyan en los estudios sobre la estructura de la molécula HLA-DR<sup>18</sup>. Según dichos estudios, el sitio de unión de los péptidos está formado por una serie de «bolsillos» definidos por un número fijo de aminoácidos, cada uno de los cuales tienen unas propiedades fisicoquímicas concretas. La carga eléctrica resultante en estos «bolsillos» determina el tipo de péptido que puede unirse y, por tanto, la compatibilidad. Los autores clasifican los alelos HLA-

DRB1 en 12 grupos atendiendo a las propiedades eléctricas de 5 de estos «bolsillos». Una vez más, se puede observar que los alelos pertenecientes a especificidades distintas quedan englobados en el mismo grupo, y que existen diferencias entre alelos de la misma especificidad (tabla II).

### OTROS FACTORES IMPLICADOS

Los riñones trasplantados son rechazados como resultado de una respuesta inmune dirigida frente a

**Tabla II.** Clasificación de los alelos HLA-DR según la carga de los bolsillos 1, 4, 6, 7 y 9 de la zona de unión del péptido

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7	Grupo 8	Grupo 9	Grupo 10	Grupo 11	Grupo 12
0101	0103	15011	1601	03011	0402	11011	1201	1401	1405	0701	09011
0102	1304	15012	1602	03012	1102	11012	12021	1404	1001		09012
0405		15021		0302	1103	11041	12022				
0409		15022		0401	1301	11042	1303				
0410				0403	1302	1305	0801				
0411				0404		1403	08031				
				0406		08021	08032				
				0407		08022					
				0408		08041					
				1402		08042					

Tomado de Busson y cols.<sup>17</sup>

los antígenos extraños del injerto, principalmente las moléculas HLA. Aunque el rechazo está mediado por los linfocitos del receptor, factores tanto de éste como del donante contribuyen al ambiente local que influencia la naturaleza, severidad y duración de la respuesta. La aplicación de métodos moleculares ha puesto de manifiesto una expresión diferencial en el riñón de citocinas, quimiocinas, moléculas de adhesión endotelial y sus receptores. Todas estas moléculas desempeñan un papel importante en el reclutamiento de linfocitos T en el órgano y la co-activación de los mismos.

Un aspecto importante del estudio del ambiente inmune local de donante y receptor es el que se refiere a la existencia de variantes genéticas cuya expresión pueda condicionar la respuesta al trasplante. Diversos trabajos recientes han mostrado la existencia de asociaciones entre polimorfismos localizados en los genes de moléculas como el IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-10, y el rechazo agudo<sup>19-21</sup>. Estas asociaciones están indicando que la presencia de determinados polimorfismos en los genes de las moléculas que participan en la respuesta inmune podría ser un factor de riesgo para el trasplante.

## CONCLUSIONES

Este tipo de modelos basados en los aminoácidos de la zona de unión de los péptidos de las moléculas HLA-DR podría explicar los episodios de rechazo que se dan en caso de tipaje compatible, así como los casos de éxito en trasplantes teóricamente menos compatibles. Los trabajos publicados hasta la fecha sobre estos nuevos enfoques de la compatibilidad HLA han estudiado únicamente la correlación con los episodios de rechazo y la producción de anticuerpos de clase II, o se han limitado a plantear aproximaciones teóricas a la compatibilidad basadas en la estructura tridimensional de la molécula DR. Parece interesante llevar a cabo estudios retrospectivos con el objeto de evaluar la compatibilidad de los trasplantes según estas aproximaciones, y analizar la función renal y las tasas de supervivencia, lo que no se ha realizado hasta ahora. Estos estudios permitirían definir las combinaciones alélicas permisivas e inmunogénicas y establecer la validez de estos métodos como nuevo concepto de compatibilidad a aplicar. Estos nuevos criterios podrían constituir la base para una asignación de órganos más adecuada que aumentaría el porcentaje de éxito de los trasplantes de órganos en general y renales en particular.

Por otro lado no cabe duda de que las moléculas HLA-DR, con ser el elemento determinando en el

reconocimiento de lo ajeno, no es el único factor susceptible de influir en el resultado de un trasplante. El ambiente inmunológico de receptor y donante está constituido por un conjunto mucho mayor de moléculas. Entre ellas, las citocinas y sus receptores, candidatos claros a desempeñar un papel decisivo en la cascada de activaciones que desemboca en el rechazo del órgano. El estudio de estas relaciones moleculares hará posible en un futuro el bloqueo selectivo de las vías de estimulación de las células T, permitiendo la prevención del rechazo sin suprimir el sistema inmune de forma general.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lechler RI, Batchelor JR: Restoration of immunogenicity to passenger cell-depleted kidney allografts by the addition of donor strain dendritic cells. *J Exp Med* 155: 31-41, 1982.
2. Taylor CJ, Welsh KI, Gray CM y cols.: Clinical and socio-economic benefits of serological HLA-DR matching for renal transplantation over three eras of immunosuppression regimens at a single unit. En: Ed. Terasaki PI, Cecka JM. *Clinical Transplants 1993*. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory. p. 233, 42, 1994.
3. Christiaans MH, Van den Berg-Loonen PM, Nieman FH, Cohen B, Kootstra G, Van Hooff JP: Cadaver kidney exchange on the basis of HLA matching is already cost-effective in the first year after grafting. *Transplant Proc* 25: 1685-6, 1993.
4. Kissmeyer-Nielsen F, Olsen S, Petersen VP, Fjeldborg O: Hyperacute rejection of kidney allografts associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells. *Lancet* 1: 662, 1966.
5. Terasaki PI, Thrasher DL, Hauber TH: Immediate kidney transplant rejection and associated preformed antibodies. En: Dausset J. *Advances in transplantation*. Baltimore: Williams and Wilkins. p. 225, 1967.
6. Opelz G, Mytilineos J, Scherer D, Dunckley H, Trejaut J, Chapman J, Middleton D, Savage D, Fischer O, Bignon JD y cols.: Survival of DNA HLA-DR typed and matched cadaver kidney transplants. *Lancet* 338: 461-3, 1991.
7. Opelz G: HLA compatibility and kidney grafts from unrelated live donors. Collaborative Transplant Study. *Transplant Proc* 30: 704-5, 1998.
8. Held PJ, Kahan BD, Hunsicker LG, Liska D, Wolfe RA, Port FK, Gaylin DS, García JR, Agodoa LY, Krakauer H: The impact of HLA mismatches on the survival of first cadaveric kidney transplants. *N Engl J Med* 331: 765-70, 1994.
9. Rogers CA, Belger MA, Bawden RJ, Martin S, Briggs JD: Effect of HLA mismatching and other donor factors on renal allograft survival: analysis of 12,287 UK and Republic of Ireland transplants. *Transplant Proc* 28: 118-20, 1996.
10. Ting A, Morris PJ: Powerful effect of HLA-DR matching on survival of cadaveric renal allografts. *Lancet* 2: 282-5, 1980.
11. D'Apice AJF, Sheil AGR, Tait BD, Bashir HV: A prospective randomised trial of matching for HLA-A and B versus HLA-DR in renal transplantation. *Transplantation* 38: 37-41, 1984.
12. Poli F, Scalamogna M, Mascaretti L, Pappalètera M, Nocco A, Crespiatico L, Cattaneo R, Lecchi L, Sirchia G: Genomic HLA-DR compatibility in solid organ transplantation: a retrospective analysis of 1,209 cases. *Transplant Proc* 27: 647-50, 1995.
13. Cook DJ, Roeske L, Hodge EE, Goldfarb D, Flechner SM, Dennis VW, Novick AC: Molecular level HLA mismatches in

- UNOS «zero-mismatched» kidney transplants. *Transplant Proc* 29: 1401-2, 1997.
14. Adorno D, Canossi A, Piazza A, Poggi E, Papola F, Di Rocco M, Liberatore G, Del Beato T, Ozzella G, Anaclerio M, Casciani CU: The role of beta-pleated sheet DRB1 differences in acute rejection after cadaveric renal transplant. *Transplant Proc* 31: 739-3, 1999.
  15. Sada M, Takahara S, Tada M, Hatori M, Wang JD, Okuyama A, Tsuji T: Importance of HLA-DRB1 molecular matching based on three-dimensional structure in cadaveric renal transplantation: a trial of new criteria for recipient and donor selection. *Transplant Proc* 29: 1440-2, 1997.
  16. Takahara S, Sada M, Hatori M, Wang JD, Tsuji T, Kokado Y, Kameoka H, Li D, Ichimaru N, Suzuki S, Nishimura K, Fujioka H, Kojima Y, Miki T, Kita Y, Namiki M, Okuyama A: Importance of HLA-DRB1 molecular matching between recipient and donor in cadaveric renal transplantation. *Transplant Proc* 28: 1255-6, 1996.
  17. Busson M, Djoulah S, Karsenty E, Bleux H, Bouteiller AM, Charron D: Proposal for a new classification of HLA-DR alleles based on electric charges of pockets of amino acid residues. *Transplant Proc* 30: 2855-6, 1998.
  18. Stern LJ, Brown JH, Jardetzky TS, Gorga JC, Urban RG, Strominger JL, Wiley DC: Crystal structure of the human class II MHC protein HLA-DR1 complexed with an influenza virus peptide. *Nature* 368: 215-21, 1994.
  19. Pelletier R, Pravica V, Perrey C, Xia D, Ferguson RM, Hutchinson I, Orosz C: Evidence for a genetic predisposition towards acute rejection after kidney and simultaneous kidney-pancreas transplantation. *Transplantation* 70: 674-80, 2000.
  20. Marshall SE, McLaren AJ, McKinney EF, Bird TG, Haldar NA, Bunce M, Morris PJ, Welsh KI: Donor cytokine genotype influences the development of acute rejection after renal transplantation. *Transplantation* 71: 469-76, 2001.
  21. Asderakis A, Sankaran D, Dyer P, Johnson RW, Pravica V, Sinnott PJ, Roberts I, Hutchinson IV: Association of polymorphisms in the human interferon-gamma and interleukin-10 gene with acute and chronic kidney transplant outcome: the cytokine effect on transplantation. *Transplantation* 71: 674-7, 2001.