

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



Departamento de Bioanálisis Clínico
Seminario de Graduación para optar al título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico

Tema:

MEDICINA TRANSFUSIONAL

Sub Tema:

SISTEMA HLA Y MEDICINA TRANSFUSIONAL

AUTORES:

- ❖ Br. LUCIANO FRANCISCO GUERRERO CASTILLO
- ❖ Bra. FÁTIMA DEL SOCORRO ESPINOZA ARÉVALO
- ❖ Br. JADER JOSÉ SOBALVARRO RIZO

TUTORA:

- ❖ María Elena Dávila Narváez
Lic. Bioanálisis Clínico
Msc. Epidemiología

Managua, Nicaragua. Febrero 26 del 2015

INDICE

Dedicatoria	<i>i</i>
Agradecimiento	<i>ii</i>
Valoración del Docente	<i>iii</i>
Resumen	<i>iv</i>

	Capítulo		Páginas
I.	Introducción	1
II.	Justificación	3
III.	Objetivos	4
IV.	Desarrollo del Subtema.....		5
	4.1. Datos Históricos del Sistema HLA....	5
	4.2. Sistema HLA	9
	4.3. Medicina Transfusional.....		21
	4.4. Haplotipos y relación con la Terapia Transfusional	27
	4.5. Métodos de detección del sistema HLA.....		28
V.	Diseño Metodológico	32
VI.	Conclusiones	34
VII.	Bibliografía	35
VIII.	Anexos	37

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.

- ❖ *Luciano Francisco Guerrero Castillo.*
- ❖ *Fátima del Socorro Espinoza Arévalo.*
- ❖ *Jader José Sobalvarro Rizo.*

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

La Medicina Transfusional apoyada en la terapéutica transfusional investiga anticuerpos que pueden provocar efectos indeseados o reacciones transfusionales que pueden poner en riesgo la vida de los pacientes receptores de los hemocomponentes sanguíneos. Entre los cuales, los anticuerpos del Sistema Mayor de Histocompatibilidad (HLA), un sistema muy complejo, desempeñan un papel muy importante en una serie de eventos relacionados con la transfusión, en los que destacan las reacciones transfusionales febriles no hemolíticas. Sin embargo, en la actualidad solo los países desarrollados han logrado establecer la detección de estos anticuerpos de forma rutinaria para la evaluación de los pacientes multitransfundidos.

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 quehacer de la Medicina Transfusional.

Por lo cual considero que este trabajo de tipo documental con el Tema: “**Medicina Transfusional**” y Subtema: “**Sistema HLA y Medicina Transfusional**”, reúne todos los requerimientos científicos y metodológicos para ser presentado y defendido por sus autores.

Msc. Ma. Elena Dávila Narvárez
Tutora
Docente Dpto. Bioanálisis Clínico
POLISAL-UNAN-MANAGUA

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo principal determinar la importancia del sistema HLA y su rol en la Medicina Transfusional. Además de determinar la importancia de este sistema característicamente polimórfico e importante en la terapia transfusional, también se estudiaron otros aspectos, tales como: el rol que tiene el HLA en la Medicina Transfusional, los haplotipos del sistema y la utilidad de las pruebas que se utilizan para la investigación del mismo. El diseño estadístico 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 para lograr el propósito de la investigación. Finalmente se concluye que: El Sistema HLA en la Medicina Transfusional desempeña un rol importante en la terapéutica transfusional con el reconocimiento de antígenos y anticuerpos que pueden producir una reacción adversa en las transfusiones de hemocomponentes. Los antígenos y anticuerpos del sistema HLA tienen importancia en una serie de eventos relacionados con la transfusión, incluyendo la aloinmunización y la refractariedad a las plaquetas. La dinámica de los haplotipos 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

La Medicina Transfusional tiene como objetivo la conservación y el restablecimiento de la salud apoyada en la terapéutica transfusional, una parte de la medicina enseña el modo de tratar las enfermedades proporcionando los elementos sanguíneos celulares o plasmáticos que el enfermo requiera. El concepto actual de Medicina Transfusional no hace mención solo de la transfusión de componentes sanguíneos sino que abraza también otras actividades como el trasplante de precursores hematopoyéticos, la terapia celular y tisular, y la inmunoterapia. Además, ésta se apoya en laboratorios cada vez más sofisticados para minimizar los riesgos de transmisión de enfermedades, maximizar la compatibilidad de células y tejidos y averiguar las causas de las reacciones adversas inmunológicas y no inmunológicas.

La transfusión de componentes sanguíneos son procedimientos que permiten corregir las deficiencias hematológicas para las cuales fue indicada. Sin embargo, en la actualidad, a pesar de los estrictos controles que anteceden a la transfusión, los receptores pueden presentar efectos no deseables, los que se conocen como efectos adversos o reacciones adversas de la transfusión. Estos efectos adversos pueden ser producidos por anticuerpos contra las diferentes células sanguíneas, de tal forma que se identifican anticuerpos contra antígenos, componentes leucocitarios, plaquetarios, eritrocitarios o del sistema HLA.

Los HLA (Sistema Mayor de Histocompatibilidad descubierto por Jean Dausset en 1954), forman un sistema complejo organizado bajo determinaciones de bases genéticas (genes) de donde resultan productos moleculares que son de vital importancia en la regulación inmune, las transfusiones y los trasplantes de órganos y tejidos.

Los anticuerpos y antígenos leucocitarios humanos (HLA), desempeñan un papel muy importante en una serie de eventos relacionados con la transfusión, como: refractariedad plaquetaria mediada por reacción inmune; reacciones transfusionales febriles no hemolíticas; lesión pulmonar aguda por transfusiones (TRALI); enfermedad injerto contra hospedero. 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. (Martínez J., 2013)

Actualmente en Nicaragua, el desarrollo de la Medicina Transfusional ha sido paulatino. Si bien, se realiza rastreo de anticuerpos, éste no incluye la determinación de los HLA. De igual forma, no se encontraron antecedentes de estudios que relacionen el Sistema HLA y la Medicina Transfusional o investigaciones relacionadas a la detección de este tipo de anticuerpos (HLA). Únicamente se encontró información bibliográfica en relación al tópico abordado en este estudio.

II. JUSTIFICACIÓN

En la Medicina Transfusional, se hace énfasis en el estudio de las reacciones adversas que pueden producirse en la práctica de la transfusión de hemocomponentes, en las cuales el sistema Mayor de Histocompatibilidad juega un papel muy importante, el HLA ocupa el segundo lugar en importancia, después de los antígenos ABO, en la determinación de la supervivencia de los órganos trasplantados y es fundamental en el trasplante hematopoyético.

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 extraños y cómo incide en la calidad de la transfusión efectiva de los hemocomponentes. Por lo que este estudio con el objetivo: Determinar la importancia del sistema HLA y su rol en la Medicina Transfusional, tiene la finalidad de ser un aporte para el desarrollo de la inmunoterapia y por ende la terapéutica transfusional ejercida en el país.

Al mismo tiempo, el estudio servirá como guía de futuras investigaciones relacionadas a la temática desarrollada, para consultas a futuros estudiantes, personal relacionado en esta especialidad y personas que estén interesadas con el tema, que quieran enriquecerse sobre el mismo, tan importante en la medicina transfusional como en la clínica del paciente.

III. OBJETIVOS

Objetivo General.

- ❖ Determinar la importancia del sistema HLA y su rol en la Medicina Transfusional.

Objetivos Específicos.

1. Especificar el rol que desempeña el Sistema Mayor de Histocompatibilidad (HLA) en la Medicina Transfusional.
2. Establecer la dinámica del Sistema HLA en cuanto a los haplotipos y su relación con la Terapia Transfusional.
3. Explicar la utilidad que tienen las pruebas utilizadas en la investigación del sistema HLA.

IV. DESARROLLO DEL SUBTEMA

4.1. Datos Históricos del Sistema HLA

La historia del sistema HLA es reciente y forma parte de una nueva 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 la Medicina Transfusional, en el trasplante 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).

Dentro de la Medicina Transfusional, el sistema HLA influye en la aloinmunización y refractariedad plaquetaria, las reacciones febriles no hemolíticas (RFNH), pulmonares agudas y el injerto vs. huésped. 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).

4.1.1. Características de su utilización en la era moderna

Los primeros trabajos con trasplantes de tumores en ratones habían demostrado que las diferencias genéticas entre dador y receptor eran las que determinaban el

éxito del injerto: si el dador 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 multíparas.

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 HistocompatibilityWorkshops 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 Workshop 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 substancia. La $\beta 2$ microglobulina ha sido asociada con el supuesto receptor del linfocito T, lo que asocia aun 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.

4.2. Sistema HLA

Los HLA forman un sistema complejo organizado bajo determinaciones de bases genéticas (genes) de donde resultan productos moleculares que son de vital importancia en la regulación inmune, las transfusiones sanguíneas y los trasplantes de órganos y tejidos. Existen varios antígenos en la superficie celular de las plaquetas, algunos de los cuales son compartidos con otro tipo de células. Los anticuerpos significativos que reaccionan con las plaquetas caen dentro de tres grupos: anticuerpos anti-ABO, anticuerpos HLA y anticuerpos a antígenos específicos plaquetarios. El sistema HLA ocupa el segundo lugar en importancia, después de los antígenos ABO.

Los antígenos linfocitarios humanos (HLA) son de estructura glucoproteica polimérica, que se dividen en tres regiones diferenciadas que contienen los HLA de clase o tipo I, II Y III; cada tipo de molécula tiene a su vez distintas funciones. El tipo HLA-I está constituido de receptores para antígenos endógenos ubicados en la mayoría de las células nucleadas; el tipo II tiene receptores para antígenos exógenos sólo en células presentadoras de antígenos (CPA) y el tipo III tiene grupos mixtos de proteínas incluido el sistema de complemento. (Ver en Anexos Figura 1)

Los genes de los antígenos del sistema HLA están localizados en el complejo principal de histocompatibilidad (MHC), en el brazo corto del cromosoma 6 que se hereda en bloque como un haplotipo, distribuidos en diferentes locus estrechamente ligados y denominados como clase I: A,B Y C, clase II: DR, DQ Y DP. Estos genes contribuyen al reconocimiento de los antígenos propios y no propios ante la respuesta inmune a un estímulo antigénico, coordinando así la respuesta de la inmunidad celular y humoral. Los productos del gen HLA son moléculas de glucoproteínas que se encuentran expresadas con intensidades variables sobre la membrana de la mayoría de las células del cuerpo humano, incluyendo: linfocitos, granulocitos y monocitos, además de plaquetas. Los

eritrocitos maduros pierden la expresión de antígeno HLA, aunque como normoblastos nucleados si lo expresan. (Ver en Anexos Figura 2)

4.2.1. Antígenos leucocitarios humanos clase I

La presencia y expresión de estos antígenos está codificada genéticamente y localizada en los locus A, B y C. Son antígenos formados por dos cadenas: una glucoproteína pesada (alfa) y una ligera (beta, muy similar a la beta₂-microglobulina). 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+). (Ver en Anexos Figura 3 y 5)

4.2.2. Antígenos leucocitarios humanos clase II

La presencia y expresión de estos antígenos está codificada por estos genes ubicados en los locus DR, DQ, y DP; están constituidos por dos cadenas glucoproteicas *a* y *b* e intervienen en el brazo aferente de la inmunidad, diseñada para conocer nuevos antígenos mediante interacción con los linfocitos T facilitadores (T CD4+). (Ver en Anexos Figura 4 y 5)

4.2.3. Antígenos específicos plaquetarios

En la membrana plasmática de las plaquetas se encuentran antígenos del sistema ABH que son componentes intrínsecos de esa membrana y otros que ésta ha adquirido por adsorción desde el plasma. Las concentraciones de antígenos ABH son muy variables entre los diferentes individuos, resultando que entre el 5% y el 10% de las personas que no son del grupo O tienen cantidades extremadamente elevadas de sustancias A y B en sus plaquetas. Estas personas parecen constituir una población que expresa una “alta expresión” de la enzima glicosiltransferasa en sus sueros. (AAHI, 2007)

4.2.4. 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)

4.2.5. 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. (<http://centrodeartigo.com/articulos-de-todos-los-temas/article 30166.html>)

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 MCI toman muestras de proteínas citosólicas 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 sintetizado 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.

4.2.6. Presentación y procesamiento del antígeno

Las moléculas del CMH clase I se unen a péptidos derivados de procesamiento citosólico en el retículo endoplásmico RE (ER- Endoplasmatic Rituclum) 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 α parcialmente doblada – β 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 α 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 whit Antigen Processing).

El PLC también incluye el retículo endoplasmático-ERp57 oxido-reductasa 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 MCH 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 la proteasoma son optimizados en el extremo C-terminal para su enlace con la CMHI 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 (Endoplasmatic Reticulum Amonopeptidase associated whith 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 dentríticas y el Ph de los endosomas disminuyen progresivamente resultando en la activación de proteasas y la ruptura del antígeno en fragmentos de 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 peptídico. 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/li se esta formando, se asocia con la molécula chaperona Calnexin. (<http://tratado.uninet.edu/c080301.html>)

▶ **En el rechazo del injerto**

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.

▶ **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. (<http://centrodeartigo.com/articulos-de-todos-los-temas/article-30166.html>)

4.2.7. Factores biogénéticos 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.

4.2.7.1. 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 natural 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 sobre carga 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 antígeno Rodgers y la molécula C4B (si está presente) porta el antígeno Chido, que se absorben en los glóbulos rojos de los individuos poseedores del gen.

4.2.7.2. 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 predecir si 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). (Ver en Anexos Figura 6)

► **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 una 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 la 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 éstos 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, por que 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)

4.3. Medicina Transfusional

La medicina transfusional (Terapia transfusional o hemoterapia), es la medicina a base de componentes sanguíneos, utilizada en el tratamiento de enfermedades o deficiencias, que no pueden ser tratadas con otro tipo de terapia, si no es con sangre y sus componentes. La administración terapéutica de hemocomponentes debe ser útil. Aún cuando la indicación es correcta, podría producirse efectos adversos. Por lo tanto, la transfusión solo se lleva a cabo cuando los beneficios previstos superan a los riesgos potenciales, existen algunas alternativas farmacológicas y situaciones transfusionales especiales. (Rocha J., 2014)

La Medicina Transfusional es, por tanto, una disciplina compleja con tecnología médica muy avanzada, que involucra a un sinnúmero de especialidades no sólo médicas, sino también de otros campos del conocimiento, las cuales tienen repercusiones en el mundo de la ciencia y la tecnología, con sus respectivas implicaciones éticas, a la par de sus sistemas administrativos, por lo que podemos

inferir la importancia del desarrollo con calidad que ha tenido la Medicina Transfusional. (Salvatella M., 2008)

La transfusión es sustancialmente segura en la actualidad. Sin embargo, las transfusiones de sangre alogénicas están aún asociadas con varios riesgos, que van desde errores clericales hasta transmisión de agentes infecciosos y complicaciones inmunológicas. Además, es importante señalar que la búsqueda permanente de la reducción de los riesgos de transmisión de infecciones por transfusión y la posibilidad de garantizar la disponibilidad y oportunidad en la entrega de unidades, está basada en la donación voluntaria de sangre, que surge de la fuente limitada de su obtención: las personas sanas. Las reacciones transfusionales son un grupo diverso de eventos que ocurren como resultado de una transfusión que usualmente se presentan durante o poco tiempo después de una transfusión. (Cerdas C, 2013)

4.3.1. Importancia del sistema HLA en la Medicina Transfusional

Los antígenos y anticuerpos del sistema HLA desempeñan un papel destacado en muchos eventos transfusionales, incluyendo la aloinmunización y la refractariedad a las plaquetas, las Reacciones Febriles No Hemolíticas (RFNH), la Lesión Pulmonar Aguda por Transfusiones (TRALI) y las Enfermedades del Injerto contra Huésped (EICH). Los antígenos HLA son muy inmunogénicos. En respuesta a los embarazos, transfusiones o trasplantes, las personas normales desde el punto de vista inmunológico tienden más a desarrollar anticuerpos contra los antígenos HLA que contra cualquier otro sistema antigénico.

► Refractariedad Plaquetaria

Refractariedad Plaquetaria mediada por acción inmune, Se reporta en un 60% de los receptores que han sido multitransfundidos. La aloinmunización HLA se genera contra antígenos clase I que ha sido provocada por los leucocitos residuales presentes en los hemocomponentes celulares (concentrados plaquetarios, paquetes globulares y/o sangre total). Estudios clínicos han demostrados que

niveles de leucocitos de 5×10^6 puede ser la dosis de inmunización. Los receptores con este tipo de aloinmunización y refractariedad a plaquetas deben ser transfundidos con unidades de concentrados plaquetarios obtenidas por aféresis de un donante HLA compatible.

Se produce en receptores con anticuerpos anti-HLA o antiantígenos plaquetarios específicos por transfusiones o embarazos previos. Estos anticuerpos producen la destrucción de las plaquetas que contengan el antígeno correspondiente, manifestándose generalmente en un mínimo incremento del recuento plaquetario inmediatamente después de la transfusión de plaquetas y una pobre respuesta terapéutica. Debe diferenciarse aquellos casos de supervivencia acortada de las plaquetas por razones no inmunológicas (coagulación intravascular diseminada [CID], sepsis, esplenomegalia, etc.).

► **Donantes Compatibles**

En los individuos transfundidos, los anticuerpos anti.HLA podrían estar dirigidos contra especificidades individuales de las células del donante o contra aloantígenos públicos. La caracterización precisa podría ser dificultosa. La evaluación global del grado de aloinmunización se logra midiendo el nivel de ARP en el suero del receptor. Los pacientes refractarios con nivel de ARP alto presentan aloinmunización significativa y podría ser difícil de tratarlos con transfusiones de plaquetas.

Las plaquetas compatibles recolectadas por aféresis podrían ser útiles en algunos, no en todos los casos. Como no es fácil encontrar donantes compatibles para los cuatro tipos de antígenos, las estrategias para obtener las plaquetas HLA apropiadas para los receptores inmunizados varían. De acuerdo con los grupos serológicos con reactividad cruzada, se enfatiza la selección de donantes con compatibilidad parcial, pero podrían no proporcionar una respuesta transfusional adecuada in vivo.

Otro enfoque alternativo se basa en la concordancia de las especificidades públicas más que en los antígenos “privados”. Puede ser difícil contar con un número adecuado de donantes tipificados disponibles; se estima que para cumplir con los requerimientos transfusionales de la mayoría de los pacientes HLA inmunizados, se necesitan 1000-3000 o más donantes. El uso de perlas de antígenos simples para identificar adecuadamente las especificidades de los anticuerpos HLA permitirá una mejor selección de donantes con antígenos no compatibles aceptables.

▶ **Reacciones transfusionales febriles no hemolíticas.**

Las reacciones de este tipo están relacionadas con los anticuerpos anti-HLA específicos, tanto de granulocitos como de plaquetas. Los anticuerpos reaccionan con los antígenos del donador provocando la liberación de citocinas que causan fiebre.

▶ **Lesión Pulmonar Aguda por transfusiones**

En la Lesión Pulmonar Aguda por Transfusiones (LPAT), reacciones transfusionales cada vez más frecuentes, se produce edema pulmonar agudo no cardiogénico. La patogenia parece reflejar la presencia de anticuerpos anti.HLA en la sangre del donante, que reaccionan y fijan complemento a los granulocitos del receptor, llevando a extravasación capilar grave y edema pulmonar. Alguna vez, los anticuerpos anti-HLA del receptor reaccionan con los leucocitos del donante.

Se comunicaron casos de Lesión Pulmonar Aguda por Transfusión (TRALI) aparentemente causados por anticuerpos del donante contra los antígenos clase II del receptor. Como los antígenos clase II no se expresan en neutrófilos, debe haber una explicación alternativa para la activación de los neutrófilos en estos casos. Una hipótesis es que estos anticuerpos activados por complemento capturan los antígenos clase II en los macrófagos pulmonares del receptor. La

liberación posterior de citoquinas y quimioquinas sería la que provoca el reclutamiento y la activación de los neutrófilos en los pulmones.

► **Quimerismo y Enfermedad del Injerto contra Huésped (EICH) post transfusional**

El quimerismo es la presencia de células del donante en el receptor. El quimerismo persistente después de una transfusión puede llevar al desarrollo de EICH en el receptor, el desarrollo de EICH post transfusional depende de varios factores: grado de compromiso inmunológico del receptor; número y viabilidad de los linfocitos del componente transfundido y similitud HLA entre el donante y el receptor. (Ver en Anexos Figura 6).

La observación de EICH después de la transfusión de componentes de la sangre frescos, provenientes de familiares del receptor, destaca el papel del sistema HLA en este cuadro. Otras unidades seleccionadas, como las plaquetas HLA compatibles, también podrían incrementar el riesgo de EICH postransfusional. Existen muy pocos casos de EICH postransfusional después de la transfusión de sangre de donantes no familiares.

También se ha propuesto que el quimerismo puede ser responsable de la preservación de la tolerancia en algunos receptores de trasplante de órganos y de la preservación de la sensibilización HLA. La esclerodermia puede ser una forma de EICH causada por células quiméricas derivadas de células fetales que atravesaron la placenta durante el embarazo.

► **Reacciones Transfusionales Hemolíticas**

La incompatibilidad HLA podría ser causa de acortamiento de la supervivencia de los glóbulos rojos en pacientes con anticuerpos contra antígenos HLA como los Bg^a corresponden a los HLA-B7, Bg^b a los HLA-17 y Bg^c a los HLA-A28, un cuarto tipo de anticuerpos de algunos sueros anti-leucocitarios reacciona con los

glóbulos rojos de las personas que expresan HLA-A10, estos se expresan en estas células de forma débil. Esta incompatibilidad podría pasar inadvertida en las pruebas pretransfusionales convencionales.

4.3.1.1. Compatibilidad HLA

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 aloimmune 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. (www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method...)

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 ›...).

4.4. Haplotipos y relación con la Terapia Transfusional

En la condición de EICH se demuestra el papel que juegan los haplotipos HLA en las transfusiones sanguíneas. Los progenitores poseen un haplotipo HLA en común. Por lo tanto, los hijos tienen una posibilidad de uno en cuatro de heredar el mismo haplotipo de cada progenitor y el hijo 1 es homocigoto para ese haplotipo HLA. La transfusión de sangre de esta persona a un receptor no relacionado, sin este haplotipo, no provoca consecuencias deletéreas. No obstante, si el hijo 1 donara sangre a algunos de sus familiares heterocigotos para ese haplotipo (ambos progenitores y el hijo 3), el receptor no reconocería ningún antígeno extraño en los linfocitos transfundidos y no los eliminaría. Sin embargo, las células del donante reconocerían los antígenos HLA extraños del receptor, que podrían activarse, proliferarse y atacar al huésped.

En cuanto a la dinámica de los Haplotipos del sistema HLA y la relación con la terapia transfusional, se demuestra en la herencia de haplotipos de los progenitores a sus hijos, estos explican que la transfusión entre familiares heterocigotos para ese haplotipo puede causar reacciones adversas. Lo cual demuestra la función que tienen de diferenciar lo propio de lo ajeno y asegurar la respuesta inmune. El Sistema HLA y la Medicina Transfusional de acuerdo a la investigación realizada concluye que los haplotipos del sistema HLA juegan un rol importante en las reacciones transfusionales como la refractariedad de las plaquetas, lesiones pulmonares agudas transfusionales, quimerismo y enfermedad

injerto contra huésped post transfusional, las reacciones transfusionales hemolíticas y no hemolíticas, en algunas reacciones solo se relacionan en algunos aspectos y en otros el sistema está bien involucrado. El rol consiste en diferenciar lo propio de lo ajeno y en cuanto al reconocimiento de aloantígenos, las células del donante reconocerían los antígenos HLA extraños del receptor, que podrían activarse, proliferarse y atacar al huésped.

4.5. 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 8)

- **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)

- **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)

- **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. La 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.

❖ **PCR-SSP**

La especificidad de los alelos HLA amplificados por PCR-SSP (polymerase chain reaction-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)

V. DISEÑO METODOLÓGICO

a) Tipo de Estudio

Tipo de investigación documental descriptiva. Fundamentada en la consulta de documentos (libros, revistas, 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 humores, 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, 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, la detección e identificación de anticuerpos irregulares, que sin lugar a duda son uno de los exámenes de laboratorio más solicitados en los Bancos de Sangre, sin embargo existen también herramientas Inmunohematológicas en el laboratorio que nos permiten hacer el estudio de los sistemas sanguíneos plaquetarios y granulocitarios relacionados directamente con determinadas patologías como son la trombocitopenia fetal/neonatal aloimmune, la neutropenia neonatal aloimmune entre otras.

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 la Medicina Transfusional. 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.

VI. CONCLUSIONES

1. El Sistema HLA en la Medicina Transfusional desempeña un rol importante en la terapéutica transfusional con el reconocimiento de antígenos y anticuerpos que pueden producir una reacción adversa en las transfusiones de hemocomponentes.
2. Los antígenos y anticuerpos del sistema HLA tienen importancia en una serie de eventos relacionados con la transfusión, incluyendo la aloinmunización y la refractariedad a las plaquetas.
3. La dinámica de los haplotipos 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.
4. 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.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Arrazola M. (2005). *Tipificación de los alelos HLA clase I y II*, Revista Medica Instituto Mexicano Seguro Social 2005; 43 (Supl 1): 95-97
2. Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB); Manual Técnico 15^a Ed. 2007
3. Carrea R. Revista Medicina Órgano de la sociedad Argentina de investigación clínica 1997; Vol. 39.
4. Cerdas C. Guías para la investigación y manejo de reacciones postransfusionales, Revista Mexicana Medicina Transfusional; Septiembre - Diciembre, 2013; Vol. 6, Núm. 1, pp 26
5. Decaro J., Lemos F. y Magri M. (2010). *Historia de la Medicina Transfusional*. Montevideo, Uruguay: Ediciones de la Plaza.
6. Del Pozo A. Sistema HLA, Manual técnico. Asociación Argentina de Hematología e Inmunohematología (AAHI); 2007 15^a ed.
7. 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
8. Rocha JF. *Terapia Transfusional*. Material recopilado 2014; pp. 2

9. Savatella Flores Margarita Judith. (2008). *Antecedentes históricos de la Medicina Transfusional*. Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, A.C. Vol. 1, Núm. 1, Jul.-Sep. 2008, pp. 7-9.

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 ›... › Otros tratamientos › fragmentado. Compatibilidad del donante para el alotrasplante.
8. 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

ANEXOS

ANEXOS

FIGURAS

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

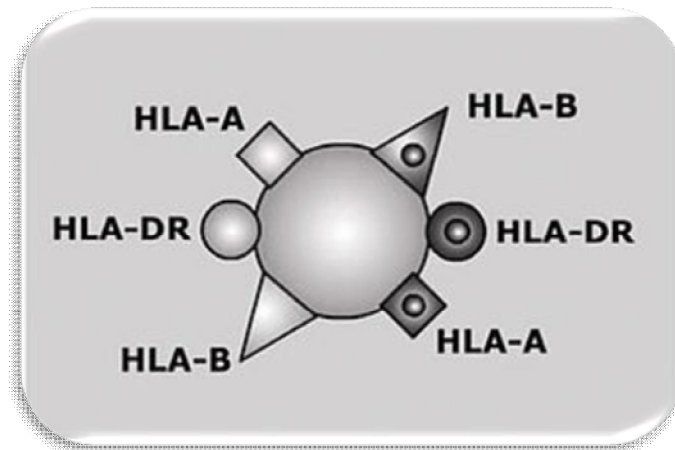
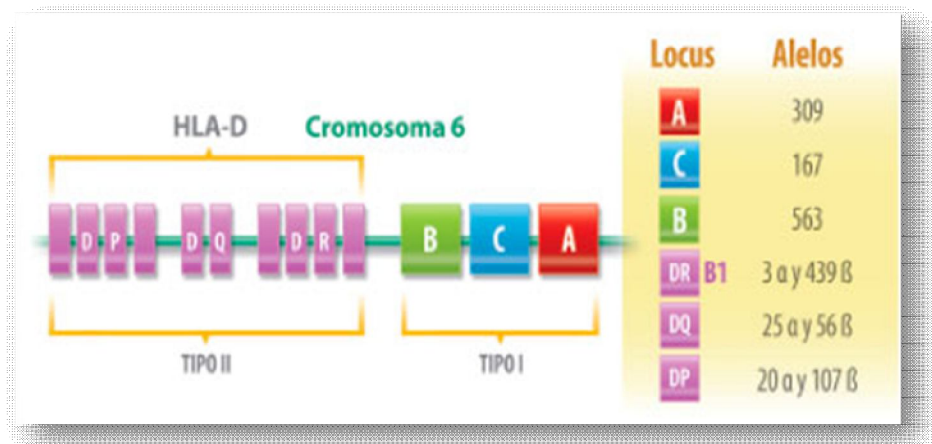


Figura 2. Representación Esquemática de la expresión genética



Se puede distinguir que cada Locus tiene una gran variedad de Alelos como explicación de la diversidad genética.

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

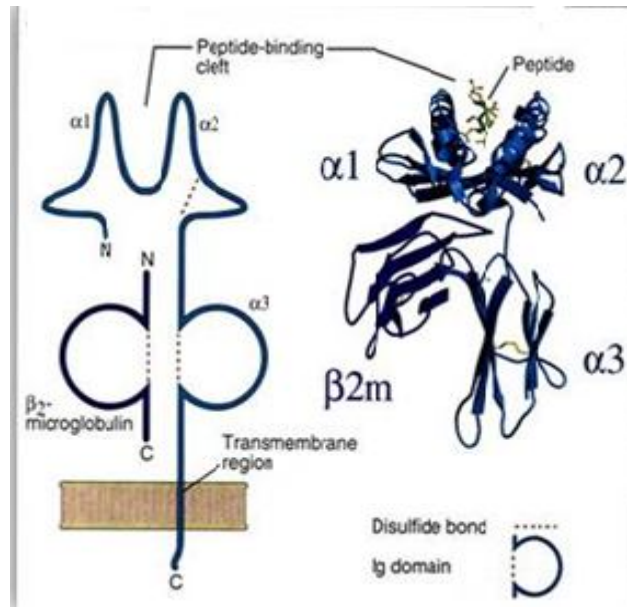


Figura 4. Esquema representativo de la Estructura de los antígenos HLA Clase II

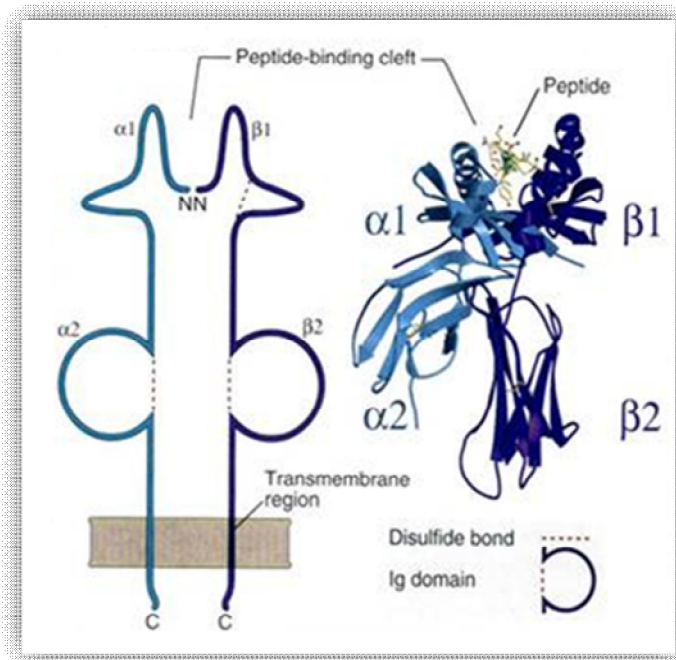


Figura 5. Representación esquemática de la Estructura de los antígenos Codificados por genes del CMH clase I y clase II

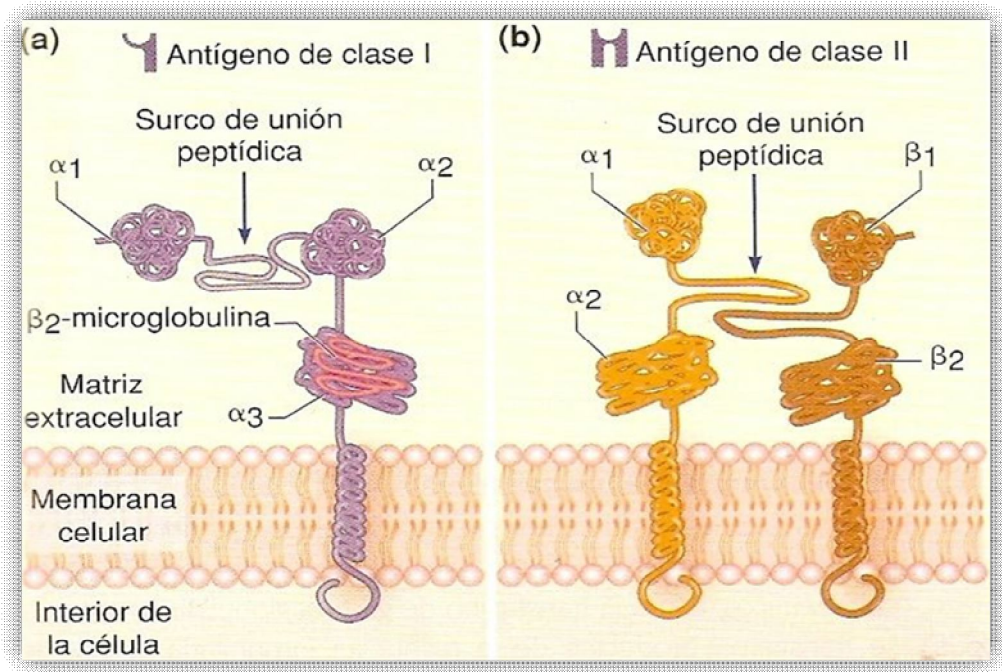
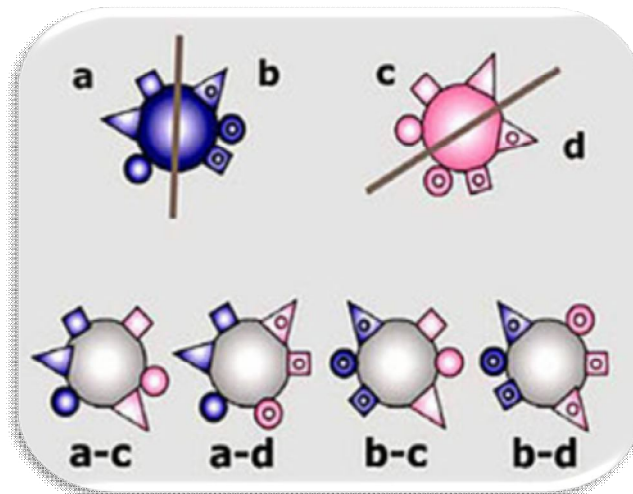


Figura 6. Esquema gráfico que explica la Herencia HLA



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

Figura 7. Esquema representativo de la Patogenia de la Enfermedad Injerto Contra Huésped.

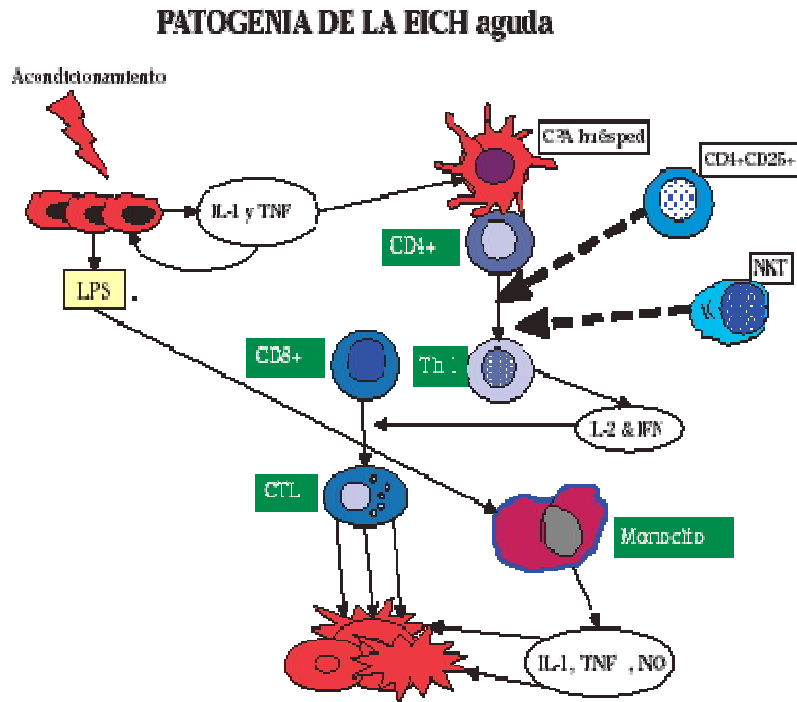


Figura 8. Representación esquemática de los métodos utilizados para el Estudio de histocompatibilidad.

