

TEMA 39. HISTOCOMPATIBILIDAD EN TRASPLANTES

Manuel Muro, María R. Alvarez-López, María R. Moya-Quiles

- 1. Definición de los sistemas de histocompatibilidad**
 - 1.1. Organización génica y estructura**
- 2. Tipificación serológica y molecular del HLA en trasplante**
- 3. Detección de la tasa de anticuerpos citotóxicos**
- 4. Prueba cruzada pre-trasplante de los potenciales donantes**
- 5. Aplicaciones de la histocompatibilidad a los distintos trasplantes de órganos**
 - 5.1. Trasplante renal**
 - 5.2. Trasplante cardiaco**
 - 5.3. Trasplante hepático**
 - 5.4. Trasplante pulmonar**
 - 5.5. Trasplante de cornea**
 - 5.6. Trasplante de páncreas**
 - 5.7. Trasplante de médula ósea**
- 6. Perspectivas futuras**

1. Definición de los sistemas de histocompatibilidad

Uno de los bastiones principales del sistema inmunitario para la defensa del organismo frente a cualquier agresión externa es el reconocimiento de los antígenos, después de transformados y presentados sobre las moléculas de histocompatibilidad. Los sistemas de histocompatibilidad, por tanto, juegan un papel muy importante en el desarrollo y función del sistema inmunitario, gracias a su capacidad de presentar antígenos a los linfocitos T encargados de la defensa. El sistema más conocido es el *complejo principal de histocompatibilidad* (MHC ó HLA en el hombre), 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.

Debido a su implicación en el rechazo de aloinjertos (éste ocurre cuando la respuesta inmunitaria del receptor contra el tejido extraño se induce por los antígenos presentes en el injerto pero ausentes en el receptor), clásicamente, se conocen como *antígenos de trasplante*.

El sistema HLA (*antígeno leucocitario humano*) consta de 4 millones de pares de bases, localizados en la porción distal de la banda 6p21.3, en el brazo corto del cromosoma 6, habiéndose identificado unos 400 genes en el MHC humano. Las moléculas HLA son estructuralmente altamente polimórficas y se expresan como heterodímeros en la superficie celular. Este *polimorfismo* extremo ha permitido conocer al menos 490 alelos para HLA-B, 250 para HLA-A, 119 para HLA-C y 315 para HLA-DRB1. Estudios familiares demuestran que la recombinación en esta región es rara, y el conjunto completo de alelos se heredan, habitualmente, como una unidad denominada *haplotipo*, siendo el conjunto de los dos

haplotipos (uno heredado de cada progenitor) el *genotipo* del individuo, éste se hereda en codominancia. Por otro lado, estudios de población han demostrado que ciertas combinaciones de alelos se heredan juntos más frecuentemente de lo esperado debido al azar. Este fenómeno se conoce como *desequilibrio de ligamiento*, varía con la población y con la etnia, y a veces incluso entre grupos de población de una misma etnia. Otro hecho clave en el avance del estudio del complejo mayor de histocompatibilidad lo ha supuesto la demostración de que un número de enfermedades autoinmunes y de otras etiologías tienen una asociación genética con el sistema HLA.

Respecto a sus características estructurales y funcionales los genes y moléculas HLA principales se separan en *clase I* y *clase II*. Los aspectos funcionales están en relación a su capacidad para procesamiento y presentación antigénica. Ésta y el posterior reconocimiento del antígeno es un proceso inmunológico de reconocimiento de lo propio y la capacidad para desarrollar una respuesta inmune específica de antígeno hacia los *antígenos no propios*. Por tanto, la aloreactividad solamente representa un aspecto menor de la función de las moléculas HLA pero, sin embargo, médicamente importante. La incompatibilidad es aún hoy un problema principal en la medicina del trasplante. El riesgo de alorechazo depende del grado de disparidad genética entre donante y receptor con respecto a las moléculas HLA u otras moléculas de histocompatibilidad. Las secuelas inmunológicas de un injerto incompatible pueden no solamente incluir una disminución en la supervivencia del injerto en trasplante de órganos sólidos o el desarrollo de enfermedad de injerto contra huésped en trasplante de médula ósea. Además, pueden ocurrir fenómenos de sensibilización mediante la formación de aloanticuerpos HLA que pueden ser lesivos para el futuro del trasplante.

Aparte de los antígenos mayores de histocompatibilidad, existen los denominados *antígenos menores de histocompatibilidad*, con especial relevancia en trasplante de médula ósea, que se siguen definiendo aún hoy en día. Entre estos, encontramos los antígenos H-Y, HA-1, GSST, etc.

1.1. Organización génica y estructura del sistema HLA

La región HLA se puede subdividir en tres subregiones: *clase I*, *clase II* y *clase III*. La *región de clase I*, más cercana al telómero, contiene los loci HLA-A, -B y -C que agrupan genes que codifican la cadena pesada de un gen de clase I, conocidos como *HLA clásicos* y también como de clase MHC Ia, para diferenciarlos de los demás genes de clase I, denominados MHC Ib o *no clásicos*. Entre éstos, existen los genes HLA-E, -F, -G, HFE o MIC que codifican moléculas cuya función hasta hace poco no era muy clara, pero ya comienzan a conocerse algunas posibles funciones muy interesantes. Avanzando hacia el centrómero, se encuentra la *región de clase III* que originariamente se creía circunscrita a los genes del *complemento* C4, C2 y Bf, e incluye también genes tan importantes como los del *factor de necrosis tumoral* (TNF), los de la enzima *21-hidroxilasa* y los que codifican para tres miembros de la familia de las proteínas HSP. La *región de clase II* está situada en posición más centromérica y engloba los genes: HLA-DR, -DQ y -DP. Para un mayor detalle, en la figura 1 se incluye un mapa de todos estos genes y moléculas.

1.1.1. Genes y moléculas HLA de clase I

Estructuralmente, un *gen clásico de MHC clase I* consta de 8 exones, incluyendo por delante del 1^{er} exón, un péptido señal que ocupa 3.5 Kb. La transcripción de este gen da lugar a un ARNm de 1.6 Kb, y la traducción de éste a una proteína de 340 aminoácidos (aas). Los exones 2, 3 y 4 codifican las regiones extracelulares $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$, respectivamente; la mayor

variación polimórfica se localiza en las secuencias que codifican los aas 60 a 100 del dominio $\alpha 1$, y 150 a 200 del dominio $\alpha 2$. El exón 5 codifica la región transmembrana y, los exones 6, 7 y 8 codifican la región citoplásmica.

Las moléculas HLA de clase I constan de una cadena pesada α de 45 kDa que se une a una cadena ligera de 12 kDa, la β_2 -microglobulina, que en el hombre es codificada en el cromosoma 15 (figura 2A). Ésta se une no covalentemente al dominio $\alpha 3$ de la cadena pesada, y es necesaria para la expresión de la molécula HLA de clase I en la superficie celular.

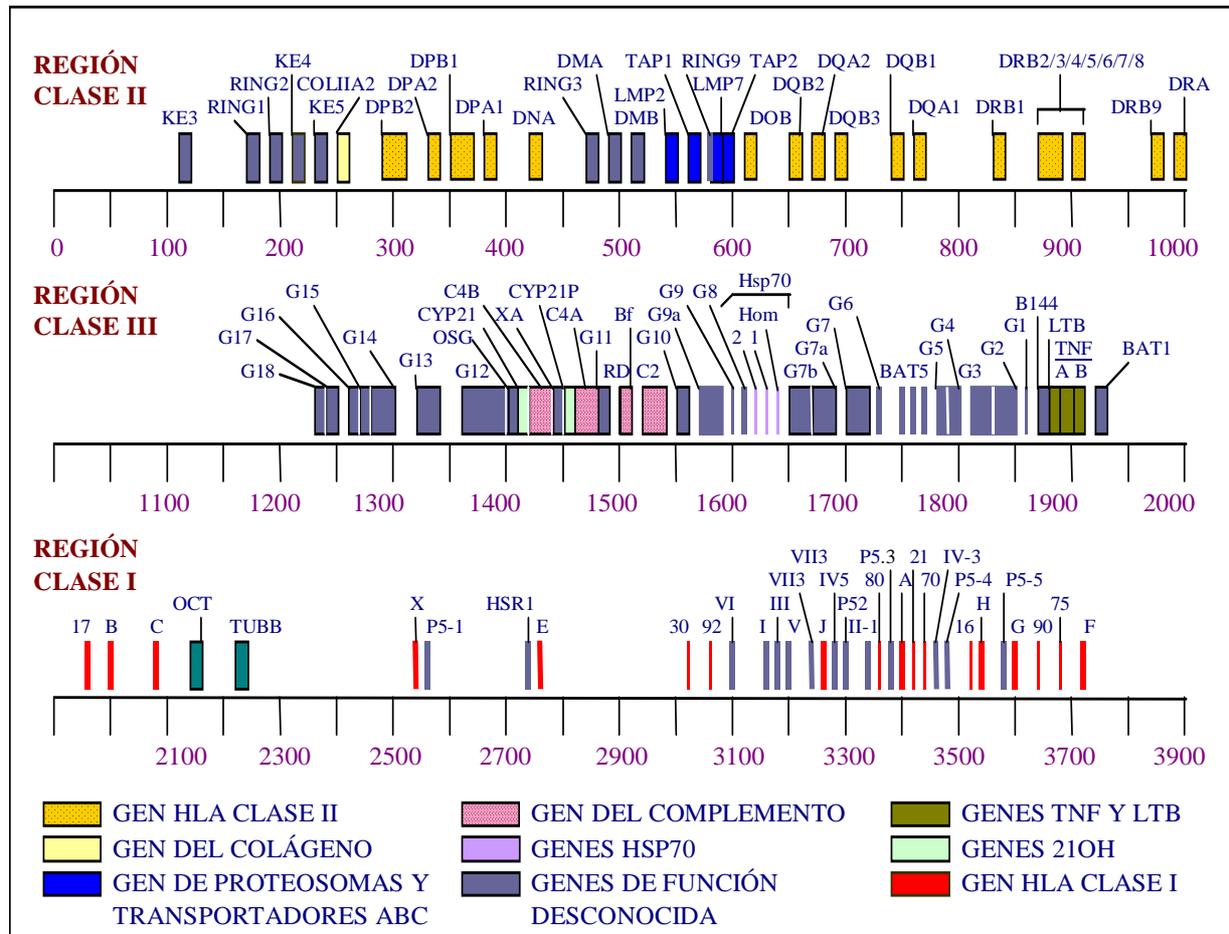


Figura 1. Mapa génico del complejo principal de histocompatibilidad.

Las cadenas α son *glicoproteínas de membrana tipo I*. Su región extracelular posee unos 300 aas, la porción hidrofóbica transmembrana (TM) 25 aas, que es muy parecida a la de otras proteínas expresadas en membrana, y la región citoplásmica que tiene unos 30 aas. Los tres dominios extracelulares tienen, cada uno, cerca de 90 aas y se extienden desde la región $\alpha 3$, adyacente a la membrana, a las regiones más distales $\alpha 2$ y $\alpha 1$, las cuales tienen restos de carbohidratos. La mayor cantidad de polimorfismo en la secuencia de estas moléculas se localiza en unas *regiones hipervariables* (HVR) dentro de los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$. El dominio $\alpha 3$ tiene un plegamiento del tipo de dominio de Igs, es menos polimórfico que los anteriores, y en su estructura se encuentra el sitio de unión a la molécula CD8 del linfocito T. Un dato importante en la determinación del polimorfismo es el hecho de que varios antígenos diferentes pueden compartir una ó más especificidades de *reacción cruzada* (del inglés, *crossreacting groups-CREGs*).

La β_2 -microglobulina es una proteína no polimórfica de 100 aas que presenta una estructura de dominio de Igs y se codifica fuera del complejo MHC. Esta molécula, a diferencia de la cadena α de HLA de clase I, no posee una región TM, por lo que se mantiene unida a través de su interacción con los dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$. Su principal función es la de estabilizar todo el conjunto para que las moléculas de clase I adquieran la estructura terciaria adecuada.

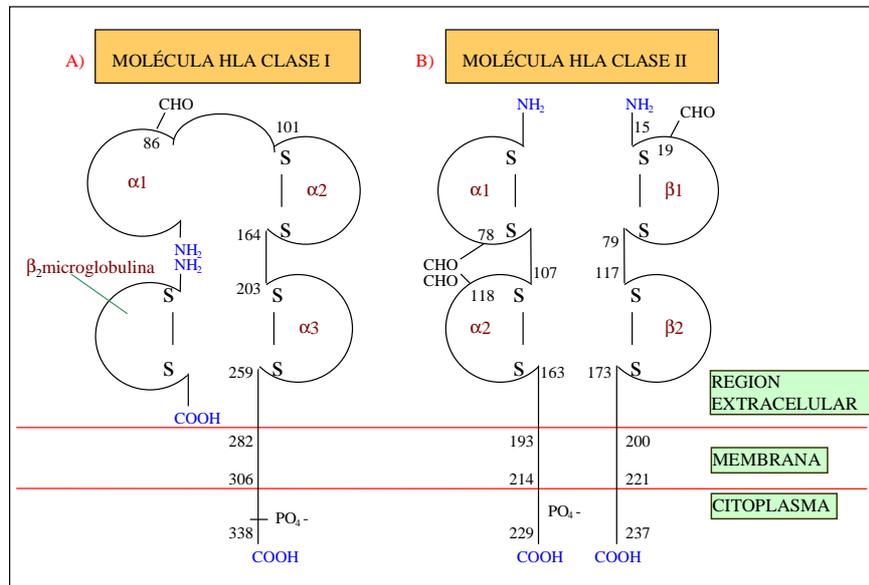


Figura 2. (A). Estructura de una molécula de clase I. (B). Estructura de una molécula de clase II. Abreviaciones: NH₂, amino terminal; COOH, carboxilo terminal; S-S, puente disulfuro; PO₄, fosfato.

En el año 1987, se publicó la estructura cristalográfica tridimensional de la molécula HLA-A2, lo que originó que se multiplicasen los estudios sobre la relevancia funcional de los sitios de polimorfismo y su unión al *receptor de la célula T* (TCR). Los sitios de unión con el péptido están formados por una hoja de 8 cadenas β , envuelta por 2 regiones de hélices α . Los péptidos se unen en el surco que se sitúa entre las 2 hélices α , y en contacto con la cara superior de las hojas β , quedando dos dominios de inmunoglobulina por debajo del sitio de unión del péptido. Los péptidos que se pueden unir a las proteínas de clase I suelen tener una longitud más corta, unos 8 a 10 aas, que los que unen a clase II y son, generalmente, de origen endógeno. La localización de los sitios antigénicos polimórficos (epítomos) en la hendidura de unión con el péptido, cerca del sitio de unión con el TCR, ha conducido a especular sobre el papel de estos polimorfismos en los trasplantes de órganos y la susceptibilidad a enfermedades.

1.1.2. Genes y moléculas HLA de clase II

En cuanto a la organización génica de la *región HLA de clase II* se ha subdividido en las subregiones que conocemos hoy en día, HLA-DR, -DQ y -DP. Así, en la *subregión HLA-DR*, hay un solo gen que codifica para la cadena α (HLA-DRA), cinco genes para las cadenas β (HLA-DRB1-5), y 4 pseudogenes (HLA-DRB6-9). No todos los genes HLA-DRB están presentes en todos los haplotipos, de modo que algunas combinaciones son específicas de haplotipo, ya que pueden ocurrir varios reordenamientos dentro de este locus.

Las *subregiones HLA-DQ* y *-DP* constan, cada una de ellas, de 2 genes para las cadenas α y 2 para las cadenas β , HLA-DQA1, -DQA2, -DQB1, -DQB2 y -DPA1, -DPA2, -DPB1, -DPB2. Los productos de los genes HLA-DQA1 y -DQB1 se asocian para formar los antígenos HLA-DQ y, análogamente, los productos de los genes HLA-DPA1 y -DPB1 se asocian para formar los antígenos HLA-DP.

El típico *gen HLA de clase II* para la cadena α , consta de 5 exones: la secuencia líder que contiene una región 5' no transcrita, la secuencia señal, y además codifica los primeros 5 aas de la proteína. Dos exones, el II y el III, codifican para los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$, mientras el péptido de conexión y los dominios transmembrana y citoplásmico son codificados por el cuarto exón. La mayor parte de la región 3' no transcrita (UT) es codificada por el quinto exón. La estructura del gen de la cadena β es muy similar, excepto para el dominio citoplásmico que contiene 2 ó 3 exones codificantes. El polimorfismo de estos genes se concentra en el exón II, que es el responsable de codificar la estructura de la unión al péptido.

Las *moléculas HLA de clase II* son también glicoproteínas de membrana de tipo I y constan de un heterodímero formado por una cadena α de 31-34 kDa y una cadena β de 26-29 kDa (figura 2B). Esta diferencia de tamaño se debe a la cantidad de carbohidratos de cada cadena. Cada una de ellas consta de una región citoplásmica de 12 a 15 aas, una región TM de 20-25 aas, y una región extracitoplásmica formada por dos dominios de unos 90-100 aas. Los dominios próximos a la membrana de cada cadena, $\alpha 2$ y $\beta 2$, poseen una estructura del tipo de la superfamilia de las Igs, mientras que los dominios distales, $\alpha 1$ y $\beta 1$, forman la estructura de unión al péptido. La cadena α de HLA-DR hasta ahora se ha considerado monomórfica, aunque ya se han encontrado 3 alelos de este gen. Las regiones hipervariables, para las moléculas HLA-DRB1, se sitúan entre las posiciones aminoacídicas 25 a 40 y 65 a 80, y son las regiones diana de los métodos de tipaje usados para definir los polimorfismos en el ADN mediante PCR. Las moléculas HLA-DQ y -DP son polimórficas en ambas cadenas α y β .

La estructura tridimensional de las moléculas HLA de clase II es similar a la estructura de las moléculas de clase I. Las posiciones más polimórficas de las moléculas se encuentran en las regiones terminales de los dominios extracelulares. El péptido que ligan las moléculas HLA de clase II suele ser de origen exógeno, en contraste al carácter endógeno del que ligan los de HLA de clase I.

Las moléculas HLA de clase II presentan los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$ proximales a membrana, y un bolsillo de unión al péptido, constituido por una base formada por ocho plegamientos en hoja β , cuatro procedentes de $\alpha 1$ y cuatro de $\beta 1$, y dos plegamientos en hélices α flanqueando el bolsillo, procedentes una de la cadena α y otra de la β . Este bolsillo presenta ligeras diferencias estructurales con respecto al de las moléculas de clase I, y ellas van a condicionar las características de los péptidos que son capaces de unir. Lo más importante, es el hecho de que, sus extremos se encuentran abiertos y permiten la unión de péptidos de mayor tamaño que las de clase I.

1.1.3. Expresión de las moléculas HLA en tejidos

Las moléculas HLA de clase I, expresadas en la mayoría de las células somáticas en el hombre, presentan niveles variables de tejido a tejido. La expresión de estas moléculas es influenciada por muchos factores, como citoquinas y linfoquinas. En comparación con clase I, el rango de tejidos que expresan moléculas HLA de clase II es más limitado pero, por inducción por citoquinas, el número de tejidos que pueden expresarlas es mayor. Constitutivamente, están presentes en la superficie celular de linfocitos B, monocitos, macrófagos y células dendríticas, conocidas como *células presentadoras de antígeno* (CPA).

Además, las moléculas HLA de clase II se encuentran también en determinados endotelios vasculares, ciertos epitelios ductales (senos, tracto gastrointestinal) y glomérulo del riñón. Como en HLA clase I, también se han observado diferencias cuantitativas de expresión para las distintas moléculas HLA de clase II. Así, las moléculas HLA-DR están presentes en mayor cantidad que HLA-DQ y -DP.

La expresión de dichas moléculas puede verse alterada en situaciones de rechazo o tolerancia del trasplante. Por ejemplo, las células endoteliales de los órganos trasplantados pueden alcanzar expresión palpable de HLA de clase II en situaciones de rechazo inmunológico, asimismo, la expresión de moléculas como HLA-G se ha asociado con estados de tolerancia determinados tipos de trasplante.

2. Tipificación serológica y molecular HLA en trasplante

En el transcurso de un operativo de alarma de trasplante el Servicio de Inmunología debe proceder generalmente de la siguiente manera.

Si se conoce la existencia de alarma con suficiente antelación, se debe solicitar la extracción de un ganglio inguinal del potencial donante para realizar el tipaje HLA de las células extraídas del mismo. Cuando no sea posible obtener ganglios por cualquier razón o si éste fuese pequeño o no se extrajesen células suficientes, se procede partiendo de bazo (con separación de los linfocitos T y B). El tipaje también puede ser realizado de sangre periférica si el donante no ha sido transfundido. Con estas muestras se procede a la extracción de linfocitos viables para las determinaciones serológicas y de pruebas cruzadas, y la extracción de ADN para el tipaje HLA por PCR-SSP.

Este material de partida (ganglio, bazo o sangre) se utilizará para separar los linfocitos mediante un gradiente de densidad con ficol. Éstos formarán un anillo que se recupera, efectuando varios pasos de lavado y su suspensión en medio de cultivo.

Hay que tener en cuenta que en el bazo existen gran cantidad de macrófagos y otros tipos celulares que deben ser eliminados de la preparación si esta va a ser utilizada para tipaje o pruebas cruzadas. Este problema no aparece en las muestras de ganglios linfáticos, por lo cual la obtención de linfocitos a partir de bazo (salvo excepciones) es un procedimiento más largo y laborioso que la de ganglios. En caso de bazo, habría que realizar la separación de células T y B, mediante columna de nilón o bolas magnéticas.

Es importante hacer recuento celular, para comprobar la viabilidad de la muestra y ajustar la concentración celular. Un vez realizado, se montan las placas de tipaje (placas de Terasaki) para HLA clase I, adicionando la suspensión de linfocitos mediante jeringas Hamilton. En estas placas están predispensados los diferentes antisueros y/o anticuerpos monoclonales dirigidos frente a las distintas especificidades HLA conocidas. Tras una incubación de los anticuerpos con las células del donante, se adiciona complemento de conejo, incubando hasta que se añade el colorante vital o determinados fluoróforos. En un microscopio de contraste de fases o de fluorescencia se determina la lisis de las células mediada por complemento, asignando el tipaje obtenido.

El tipaje HLA de clase II (HLA-DR y -DQ), y eventualmente también el de clase I, se realiza por técnicas moleculares mediante PCR-SSP (amplificación PCR con primers específicos de secuencia) y su visualización mediante electroforesis en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio.

3. Detección de anticuerpos citotóxicos

La producción de anticuerpos frente a moléculas HLA requiere de un estímulo antigénico previo. Este estímulo se produce cuando el sistema inmune de un individuo entra en contacto con células procedentes de otro individuo cuyas moléculas HLA sean diferentes. La *aloimmunización anti-HLA* se puede producir durante el embarazo, por transfusiones sanguíneas, o por trasplantes.

En general, los anticuerpos producidos *en mujeres embarazadas* son el resultado de una respuesta inmune completamente desarrollada y dirigida frente a un número limitado de antígenos extraños (antígenos fetales heredados del padre) por lo tanto son de alta afinidad y de especificidad limitada, que puede persistir durante un largo periodo de tiempo (figura 3). Aproximadamente, los anticuerpos anti-HLA se producen en un 25% de embarazadas.

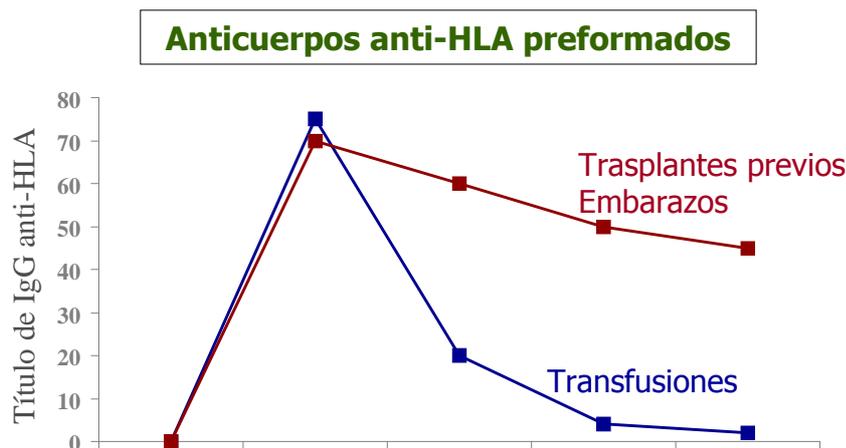


Figura 3. Cinética de producción de anticuerpos anti-HLA según la fuente de sensibilización producida

La determinación de la especificidad anti-HLA que presentan los sueros procedentes de *pacientes trasplantados* puede presentar problemas debido al hecho de que se produce en un individuo inmunodeprimido. El órgano extraño presenta multitud de antígenos diferentes, esto origina una reacción inmediata por parte de un sistema inmune muchas veces deprimido, lo que conlleva una respuesta policlonal dirigida frente a diferentes antígenos con reacción cruzada, produciéndose también anticuerpos anti-idiotipo, todo ello determina que los anticuerpos que se originan a pesar de ser de tipo IgG sean de baja afinidad y estén dirigidos frente a epítomos públicos de moléculas HLA con reacción cruzada (CREG), pudiendo persistir un gran periodo de tiempo (figura 3). Es infrecuente encontrar receptores que tengan anticuerpos frente a varias especificidades HLA del mismo CREG. Además, este tipo de pacientes pueden presentar autoanticuerpos derivados de la propia patología o del tratamiento. Aproximadamente, los anticuerpos anti-HLA se producen en un 75-90% de receptores que pierden el órgano.

La situación inmunológica que se origina en *pacientes transfundidos* es intermedia entre las dos anteriores. El paciente puede encontrarse inmunodeprimido de manera natural como consecuencia de la uremia. A pesar de que la dosis de antígeno recibida en una única transfusión es relativamente pequeña, si el tratamiento se repite periódicamente las dosis antigénicas pueden ser adecuadas para desencadenar la respuesta (declina antes el título en sangre, ver figura 3). Si las transfusiones se realizan a partir de individuos diferentes, la respuesta se produce generalmente frente a epítomos compartidos por antígenos del mismo grupo de reacción cruzada o frente a epítomos privados pertenecientes a los antígenos más frecuentes en la población. Aproximadamente, los anticuerpos anti-HLA se producen en un

25% de los pacientes transfundidos. Si se detectan sueros con especificidad interesante, pueden ser utilizados como reactivos de tipaje.

Es necesario determinar el grado de reactividad y la especificidad de los anticuerpos anti-HLA de los individuos incluidos en lista de espera de trasplante (sobre todo cardiaco y renal), ya que es un factor importante en el momento de la selección y debe figurar en la lista de espera. Por tanto, los sueros de todos los pacientes en lista de espera para trasplante renal deben ser remitidos al laboratorio cada 3 meses o cada vez que el paciente haya sido sometido a una transfusión o después de que haya rechazado un injerto. Se considera postransfusional o post-trasplante, el suero obtenido a los 15 días del episodio potencialmente sensibilizante.

Una vez se hayan testado un mínimo de 30 células, se procederá al cálculo de la tasa de anticuerpos citotóxicos (TC) o porcentaje de células del panel (PRA-panel reactive antibody) frente al que reacciona cada suero, y nos da una idea del porcentaje de donantes frente a los que daría un prueba cruzada positiva..

Los anticuerpos HLA, además, pueden ser titulados (el último positivo de una dilución seriada de suero) y dan una idea aproximada del número relativo de moléculas de anticuerpo presentes por mililitro de suero o de su afinidad por el antígeno.

Otro punto importante son los autoanticuerpos, que no son dañinos para el injerto y son más frecuentes en pacientes con enfermedades autoinmunes, pudiendo ser detectados por auto-crossmatch. Además, los aloanticuerpos son generalmente IgG, pero también pueden ser IgM. Sin embargo, los autoanticuerpos son generalmente IgM, pero pueden ser IgG. La IgM puede ser inactivada por tratamiento con DTT, que destruye los puentes disulfuro de los anticuerpos no HLA. Además, la presencia de anticuerpos IgM no parece contraindicar el resultado del trasplante.

Por otro lado, en algunos episodios de rechazo, se ha descrito la presencia de anticuerpos que reaccionan sólo con antígenos específicos de tejido, expresados en células endoteliales y monocitos, pero no en la membrana de linfocitos. Algunos se ha demostrado que son producidos contra antígenos no polimórficos y otros parecen ser polimórficos. Estos antígenos específicos de tejido podrían ser la razón para algunos rechazos observados en pacientes con prueba cruzada negativa. Son más frecuentes en pacientes retrasplantados y entre ellos tenemos: HPA1-5, AECA (35 y 50kDa), GSST-1, PECAM-1, selectina, anti-Gal-a-1,3-Gal. Sin embargo, el valor pronóstico de estos anticuerpos esta en discusión.

Por otro lado, se han propuesto dos protocolos para reducir el título de anticuerpos anti-HLA y solventar una prueba cruzada positiva o rescatar un órgano que sufra rechazo mediado por anticuerpos: inmunoglobulinas intravenosas a alta dosis (IVIG) y plasmáferesis combinada con globulina hiperinmune CMV de baja dosis (CMVIg) ó IVIG. Además, para potenciar estos tratamientos, pueden ser adicionadas terapia con anti-CD20 y esplenectomía. Todos estos protocolos de desensibilización se encuentran ahora mismo en estudio.

El mismo protocolo relatado anteriormente es válido para los enfermos en lista de espera de *trasplante cardiaco*, con la especial salvedad de que se debe realizar un estudio primario con 30 células rutinarias de tipaje en el momento de la petición de la analítica y con una urgencia relativamente mayor que en trasplante renal. Los enfermos en lista de espera de trasplante cardiaco no suelen recibir transfusiones, por lo cual solo debería repetirse la determinación después de un evento sensibilizador.

Los individuos hiperinmunizados (con tasa de PRA \geq 75%), tienen menos posibilidades de trasplantarse que los demás enfermos por lo que existen programas específicos de intercambio de órganos para ellos. Existen programas de intercambio de órganos para individuos hiperinmunizados que funcionan a nivel de red de trasplante y de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT), ofertando riñones si existe un alto grado de compatibilidad.

Hoy en día, los sueros de los pacientes en estudio, pueden ser analizados también mediante métodos de ELISA o por citometría de flujo (con dos alternativas, FlowPRA o luminex), por pocillos de placas o bolitas cubiertos de antígenos HLA. Estas técnicas detectarán también anticuerpos no fijadores de complemento, cuyo papel en trasplante está en discusión. Recientemente, ha surgido la tecnología del *antígeno simple* (single antigens), donde se podrá llegar a afinar con exactitud la especificidad fina presentada por cada suero.

Finalmente, la detección de anticuerpos post-trasplante de novo y su asociación con rechazo vascular o crónico está actualmente en fase de estudio con resultados muy esperanzadores.

4. Prueba cruzada pre-trasplante de los potenciales donantes

Una vez seleccionados, por su grado de compatibilidad HLA y otros parámetros clínicos, los posibles receptores, los sueros de éstos deben de enfrentarse con las células del potencial donante, para detectar la presencia de anticuerpos preformados contra los antígenos del donante.

Para ello, se obtienen los sueros actuales e históricos de los pacientes seleccionados, ordenando los sueros de cada paciente por antigüedad. Se buscan sueros históricos con tasa de citotóxicos (TC) > 0 , el último año aunque sea TC < 0 y suero actual si el receptor hubiese tenido una transfusión después de la última fecha de extracción de citotóxicos. Si un paciente tiene anticuerpos linfocitotóxicos ($>15\%$) se debe obtener una muestra de suero dentro de las 48 horas antes del trasplante para la prueba cruzada.

Estos sueros y diluciones de éstos se enfrentan en un ensayo de citotoxicidad frente a las células del donante a la concentración celular adecuada, observando si se produce la lisis de las células mediada por complemento.

La viabilidad celular debe ser superior al 90% y la reacción con el control positivo anti-HLA debe ser superior al 90% para considerar las pruebas interpretables. Se considera una prueba cruzada como positiva cuando la estimación de la lisis sea $> 20\%$.

La prueba cruzada con linfocitos B se puede utilizar como apoyo a la prueba cruzada con linfocitos T, aunque sus resultados están aún hoy en día en discusión.

5. Aplicaciones de la histocompatibilidad a los distintos trasplantes de órganos

El papel de la compatibilidad HLA es confuso en algunos tipos de trasplantes y claramente evidente en otros. Además, el estudio del papel de las moléculas HLA en trasplante de órganos es complicado debido a la multiplicidad de factores y mecanismos inmunológicos y no inmunológicos, que pueden intervenir en estos procesos, algunos de los cuales, puede observarse en la figura 4.

5.1. Trasplante Renal

Cada año se diagnostican en España más de 5000 nuevos enfermos con fallo renal crónico, que a diferencia de lo que ocurre con pacientes que padecen fallos de otros órganos, éstos pueden ser mantenidos con vida mediante la hemodiálisis periódica, mientras esperan un trasplante. Debido a ello es posible disponer de estos enfermos debidamente catalogados a la espera de un donante idóneo de acuerdo a sus antígenos de histocompatibilidad y del tipo de anticuerpos citotóxicos que poseen.

Entre los factores de riesgo inmunológicos que se han sugerido para la mala evolución del trasplante renal estarían, la incompatibilidad HLA, la subóptima inmunosupresión, anticuerpos citotóxicos elevados, retrasplante y aparición de rechazo agudo. Entre los factores de riesgo no inmunológicos tendríamos, la raza, edad y sexo del donante, el *status* del donante (tiempo de isquemia), hipertrigliceridemia, hipertensión arterial e infección por CMV.

5.1.1. Fundamentos teóricos de la compatibilidad HLA en trasplante renal

La consecuencia directa de trasplantar un paciente con anticuerpos anti-HLA frente al donante (DSA-anticuerpos donante específico) sería un rechazo hiperagudo, como se demostró hace muchos años, por lo tanto, la identificación correcta de la especificidad frente a la que reacciona un individuo y la realización de la prueba cruzada pretrasplante es clave. Los estudios actuales van dirigidos a la generación de anticuerpos post-trasplante como medidores del rechazo vascular acelerado cortico-resistente y del rechazo crónico del aloinjerto. La determinación de C4d en la biopsia renal es sinónimo de rechazo mediado por anticuerpos.

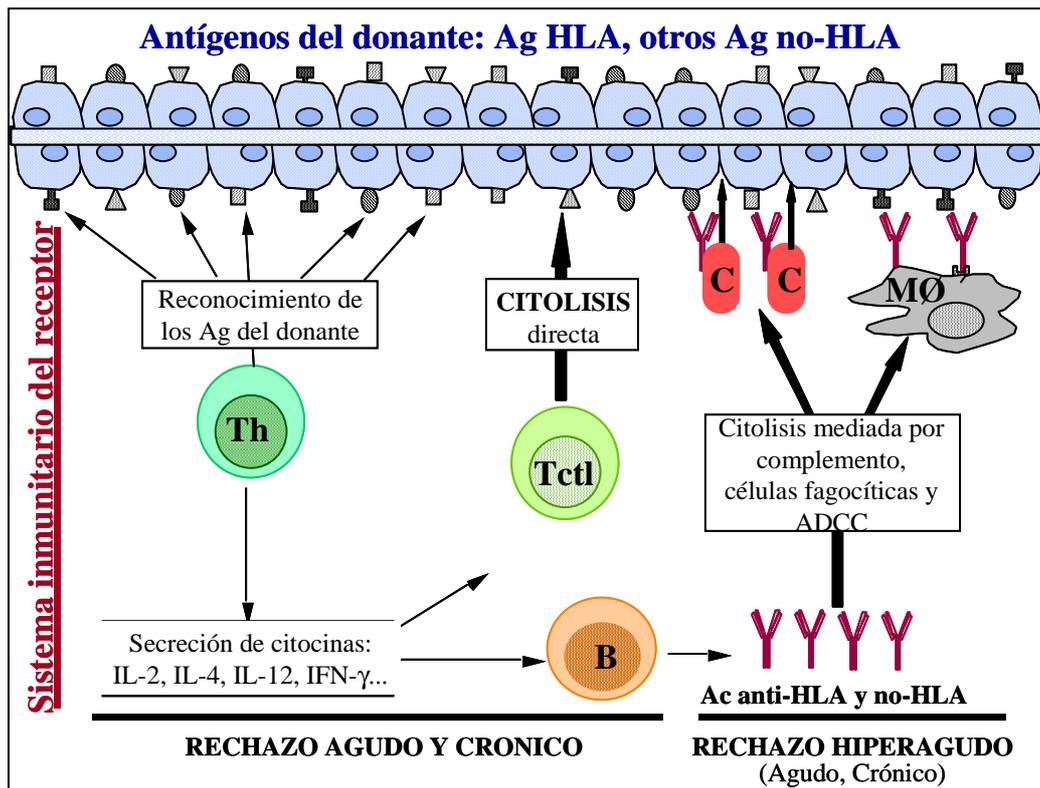


Figura 4. Mecanismos celulares y humorales por los cuales el reconocimiento de los antígenos de histocompatibilidad del donante por parte del sistema inmunitario del receptor puede desencadenar el rechazo hiperagudo, agudo o crónico del aloinjerto.

En cuanto a la compatibilidad HLA, el número de episodios de rechazo agudo en trasplante renal se ha asociado en la bibliografía al grado de incompatibilidad para HLA-DR, así como se ha observado una correlación beneficiosa entre la mejor compatibilidad HLA (tanto HLA-DR como HLA-A y -B) con la supervivencia a largo plazo del injerto. Existen gran cantidad de artículos y trabajos que demuestran estos hechos. De esta manera, la diferencia entre la mayor y menor compatibilidad a 10 años es de un 20% y a 20 años un 25%.

Existen varios factores que pueden afectar el papel de la compatibilidad HLA como son:

1. *Efecto centro*;
2. *Pacientes sensibilizados*. Los pacientes que poseen anticuerpos anti-HLA reciben riñones más compatibles;
3. *Calidad del riñón donado*. Al incrementar la demanda de trasplantes, los límites de la aceptabilidad de donantes se han expandido en los últimos 10 años. Trasplantes de donantes mayores o subóptimos dan lugar a una disminución de la supervivencia del injerto, y ésta es dependiente de la masa renal viable. De esta manera en la red de intercambio de la UNOS (red americana de intercambio de órganos) se recomienda trasplantar esos órganos localmente a receptores de la misma edad;
4. *Edad del paciente*. Al aumentar la edad de los pacientes en lista de espera, las causas de muerte no debidas al trasplante incrementan. Por ejemplo, según datos de la UNOS la proporción de pacientes que mueren con su riñón funcionando puede ser tan alta como un 44%. A pesar de esto, el efecto beneficioso de la compatibilidad HLA permanece significativo;
5. *Raza del paciente*. La diversidad de haplotipos en la raza negra es sustancialmente más alto que entre blancos. En estudios americanos, casi un 12% de pacientes de raza blanca reciben un injerto compatible frente el 3% de pacientes de raza negra.

Como alternativas a los clásicos estudios de compatibilidad HLA han surgido una serie de hipótesis como vías de actuación, no plenamente demostradas:

- Se ha informado de una baja respuesta de anticuerpos a los *antígenos maternos no heredados* (NIMA), mediante un mecanismo de tolerancia neonatal. Este concepto no ha sido demostrado posteriormente en estudios multicéntricos.
- Otro concepto importante es la posibilidad de que existan determinadas combinaciones HLA más permisivas en un trasplante que otras (*efecto tabú*) o, lo que es lo mismo, que determinadas incompatibilidades sean mejor reconocidas por el sistema inmunitario del receptor.
- Ultimamente se ha reevaluado el papel potencial de los *CREGs*. Los anticuerpos contra especificidades públicas o *CREGs* son más comunes que contra especificidades privadas, sugiriendo que epítomos públicos provocan una respuesta inmune más vigorosa que los epítomos privados. Por otro lado, solamente un 20% de pacientes reciben un injerto HLA compatible y quizás con el uso de los *CREGs* podría mejorar este hecho. De esta manera, la compatibilidad de las nuevas categorías *CREGs* sería racialmente más balanceada, disminuiría la probabilidad de una prueba cruzada positiva en pacientes hiperinmunizados, aumentaría la proporción de pacientes compatibles a nivel local mientras tendrían todavía unas altas tasas de supervivencia. Otros autores, sin embargo, demandan más estudios confirmatorios.
- Otras alternativas, parecidas al efecto tabú y el análisis de los *CREGs*, serían el análisis de las *diferencias en el número de tripletas de aminoácidos* entre donante y receptor, que puede ser predictiva de la reactividad de los anticuerpos contra antígenos HLA incompatibles, dependiente de la distinta inmunogenicidad de las combinaciones en secuencia de aminoácidos entre las moléculas HLA de donante y receptor, lo que puede resultar en intentar encontrar donantes HLA incompatibles que no den lugar a la formación de aloanticuerpos.

5.1.2. Aspectos metodológicos de una guardia de trasplante renal

Es importante seguir los estándares de EFI (European Federation of Immunogenetics), según los cuales para este trasplante es **mandatario** conocer el *tipaje* del donante (realizado durante la guardia) y del receptor (pre-tipado y en la lista de espera de receptores renales, incluida en la red de Trasplante), por lo que una vez conocido se usa para la selección del receptor más adecuado.

Igualmente para valorar si el paciente está presensibilizado contra antígenos HLA, es mandatorio disponer de un *prescreening* de anticuerpos citotóxicos PRA (Panel reactive antibody, % de anticuerpos citotóxicos) que se actualizan trimestralmente y la realización de pruebas cruzadas en el momento inmediato anterior al trasplante.

Antes de buscar cualquier receptor se debe consultar la lista de hiperinmunizados, ya que estos enfermos tienen prioridad para el trasplante y, posteriormente, se procede a buscar los receptores más idóneos.

En todos los casos de receptores renales que resulten con un mayor grado de compatibilidad, se debe revisar la evolución histórica del PRA, contemplando especialmente los datos del último trimestre, actualizado si han existido transfusiones intermedias.

Para ganar tiempo, al mismo tiempo que se montan las placas de tipaje HLA de clase I se pueden montar las placas de citotóxicos renales actuales usando el último suero de todos los pacientes que están en la lista de espera operativa. Estas placas usadas para el *screening* trimestral de la tasa de anticuerpos, darán una medida de determinados pacientes que pueden ser ya descartados frente a ese potencial donante, lo que aligera la búsqueda de los receptores ideales para el injerto. Siempre que no se trate de una urgencia clínica que lo impida por razones de tiempo, se procede también a realizar la prueba cruzada frente a un suero actual.

También se realiza un ensayo similar de microlinfocitotoxicidad con el suero de los pacientes hiperinmunizados de la red regional de intercambio renal.

Búsqueda y selección de receptores

Para pacientes renales, existen programas de pacientes prioritarios: superurgentes (SU), niños, hiperinmunizados y alto riesgo (AR), según los criterios del anexo 1.

Generalmente, se obtiene también la lista de posibles candidatos no prioritarios primando la compatibilidad HLA-DR y después la compatibilidad HLA-B+DR, consultando si los pacientes tienen en el listado anticuerpos frente a los antígenos del donante.

Una vez elaborada la lista de candidatos, se informa al nefrólogo de guardia para que compruebe si todos los pacientes están en condición de ser trasplantados. El nefrólogo debe conocer el tipaje HLA del donante, así como el resultado previo pre-prueba cruzada de los pacientes que se hayan analizado (así como los pacientes anticuerpos citotóxicos >50%, según legislación de la ONT) y que cumplan los criterios de selección por compatibilidad HLA.

Si uno de los candidatos prioritarios perteneciera a otro hospital, se informa al nefrólogo y al coordinador de trasplantes, y se deben preparar células del donante para su envío. Los criterios de exclusión, ordenación y oferta de los riñones, en el caso particular de la red Madrid-Trasplante, se detallan en el anexo 1.

Una vez confirmada la lista de candidatos por el nefrólogo, se procede a la realización de las *pruebas cruzadas pre-trasplante*. En aquellos casos que en su día tuvieron una tasa máxima de anticuerpos superior a la presente y que se tenga suero histórico, se les hará prueba cruzada con suero histórico y actual. Una prueba cruzada positiva frente a linfocitos T del donante, con el suero actual o de los últimos 2 años contraindica totalmente el trasplante renal. Si el suero actual es negativo frente a linfocitos T y algún suero histórico de más de 1 ó 2 años, resulta positivo habrá que valorar la idoneidad del receptor con el nefrólogo clínico.

ANEXO I.

Definición de los grupos de pacientes.

- H3: Se consideran hiperinmunizados aquellos pacientes que han presentado en alguno de los dos últimos trimestres una tasa superior o igual al 75%.
- AR: Se consideran pacientes de alto riesgo aquellos que hayan presentado tasa superior o igual al 50% en alguno de los dos últimos trimestres.
- Alta compatibilidad: 5 ó 6 identidades entre donante y receptor.
- SU (Superurgente) y Niños.

Criterios de elección para grupos de pacientes.

- H3 y AR: Se les exige 0 ó 1 incompatibilidad como máximo en DR+B.
- SU y Niños: Casos de urgencia clínica y es de prioridad máxima. Solo se exige isogrupo ABO. En los niños, a decisión clínica se prioriza compatibilidad HLA, salvo excepciones.
- Pool: Mínimo 3 identidades DR+B+A ó 2 DR.

Prioridad de los grupos: SU, H3, Niños, alta compatibilidad, AR, Pool, Hospital Donante (según criterios clínicos).

Ordenación en lista de espera: Número de identidades HLA totales (DR, B y A), tipo de urgencia, isogrupo ABO, tasa máxima, fecha de diálisis y edad.

Criterios de intercambio vigentes en la red MD-TX.

- Si en la lista de espera hay dos o más receptores que cumplan las condiciones de SU, H3, Niños o alta compatibilidad, tendrán máxima prioridad y los riñones, independientemente de su origen, serán ofertados a dichos receptores con independencia de su ubicación hospitalaria.
- Si en la lista hay sólo un receptor que cumpla los criterios de SU, H3, Niños, Alta Compatibilidad, se le dará prioridad absoluta para un riñón, el otro será para disposición del centro extractor.
- Si en la lista no hay ningún receptor SU, H3, Niños, Alta Compatibilidad, y hay uno o varios receptores de AR y “Pool”, un riñón se ofertará a los mismos y el otro será para el centro extractor. Se entiende que en todos los supuestos previos, aunque el hospital donante se quede con el riñón, puede “recibir” el otro cuando en la selección general sea el primer candidato.

5.2. Trasplante Cardíaco

El trasplante cardíaco se realiza a enfermos con insuficiencia cardíaca severa secundaria a disfunción miocárdica de muy diversas etiologías, siempre que no haya respuesta al tratamiento médico, no exista alternativa en la cirugía convencional y la expectativa de vida sin trasplante no supere los 6 meses.

5.2.1. Fundamentos teóricos de la compatibilidad HLA en trasplante cardíaco

Los anticuerpos citotóxicos anti-HLA clase I pueden dar lugar a una mayor incidencia de rechazo del injerto temprano y más severo, así como la vasculopatía (CAV) del aloinjerto cardíaco. Se ha informado también de la relación entre la generación de anticuerpos anti-HLA de clase II y la enfermedad de la arteria coronaria relacionada al trasplante (TRCAD).

En este tipo de trasplante la correlación de la supervivencia del injerto con la compatibilidad HLA-A, -B y -DR está plenamente demostrada como en el caso del trasplante de riñón (0-1 incompatibilidades 90% de supervivencia frente a 6 incompatibilidades 70% de supervivencia). También se ha demostrado su papel en el desarrollo de rechazo agudo. Aunque los datos retrospectivos muestran el papel de la compatibilidad HLA, el tiempo límite de preservación del órgano hace difícil aplicar prospectivamente la compatibilidad HLA para trasplante cardíaco, e incluso en muchos casos ni siquiera es factor excluyente el hecho de que el receptor tenga anticuerpos citotóxicos frente al donante. Debido a ello la terapia inmunosupresora debe ser más intensa para evitar el rechazo, con algunos efectos colaterales resultado de ésta, como puede ser la más alta incidencia de linfomas post-trasplante.

5.2.2. Aspectos metodológicos de una guardia de trasplante cardíaco

Estudios pretrasplante: Para evitar el riesgo de rechazo, deberá elaborarse una lista de receptores candidatos al trasplante en la que figuren los datos de su tipaje HLA y/o posible sensibilización. Para ello se realizarán los siguientes procedimientos:

- 1) Tipaje HLA clase I y II, incluyendo HLA-A, -B y -DR, en donante y receptor.
- 2) Estudios de presensibilización, mediante el análisis de anticuerpos citotóxicos, mayormente en casos de pacientes con un alto riesgo de rechazo de aloinjerto (por ejemplo, pacientes con historias de rechazo de injerto, transfusiones, con altos niveles de anticuerpos preformados HLA o mujeres múltiparas). Esto requiere el análisis

pretrasplante de aloanticuerpos frente a un panel de células bien caracterizadas en antígenos HLA, similar a la situación en trasplante renal.

Situaciones posibles:

- 1) Suero *pre-screening* positivo. Los pacientes con este perfil deberán ser controlados de nuevo antes de implantar un órgano obtenido localmente, realizando prueba cruzada previa al trasplante frente a células del donante. En pacientes superurgentes, debería hacerse el estudio completo enfrentando los sueros del receptor con células del panel o mediante métodos de ELISA o citométricos, en las 48 horas previas al trasplante o realizar la prueba cruzada pre-trasplante.
- 2) Suero *pre-screening* negativo. Requiere vigilancia por si el paciente se expone a procesos de sensibilización durante la espera del órgano, en cuyo caso el laboratorio deberá recibir un suero del paciente obtenido a los 7-14 días después de la sensibilización. Dicho suero se incluirá en la prueba cruzada del pre-trasplante.

5.3 Trasplante Hepático

El papel de la compatibilidad HLA en transplante de hígado es ciertamente contradictorio, ya que los distintos grupos de estudio muestran resultados muy dispares. Además, el hígado es de por sí un órgano bastante bien aceptado, después de haber vencido la mayoría de los obstáculos quirúrgicos.

5.3.1. Fundamentos teóricos de la compatibilidad HLA en trasplante hepático

Primeramente este tipo de trasplante puede ser realizado con pruebas cruzadas positivas sin riesgo de rechazo hiperagudo, de hecho los casos reportados de rechazo hiperagudo se deben a incompatibilidad de grupo sanguíneo. Si se apunta, en la bibliografía, el aumento del número de episodios de rechazo agudo y la disminución de la supervivencia del aloinjerto con el hecho de poseer anticuerpos citotóxicos frente al donante. Los últimos datos apuntan a un efecto bastante deletéreo en el postrasplante inmediato en el trasplante de donante vivo.

En cuanto a la compatibilidad y supervivencia hay grupos que apuntan un papel beneficioso de la compatibilidad HLA-A, -B y -DR, otros grupos no encuentran diferencias ni a favor ni en contra de la compatibilidad, y otros grupos informan de un papel negativo de la misma. Con respecto a la última hipótesis, la explicación de este hecho se formuló con el nombre del “efecto dual” y propone que la compatibilidad HLA reduciría el rechazo celular agudo pero aumentaría otros mecanismos inmunológicos de daño del injerto mediados por linfocitos restringidos por HLA. Así, por ejemplo, se ha informado de recurrencia más severa de la enfermedad vírica o autoinmune al compartir antígenos HLA entre donante y receptor.

En este tipo de trasplante parecen jugar un papel importante las infecciones virales (CMV, HBV ó HCV), ya que se han descrito determinadas asociaciones. Por ejemplo, se ha descrito una relación entre la presencia de infección viral, compatibilidad parcial en HLA clase I y la aparición de rechazo agudo. Otros grupos correlacionan la presencia de CMV activo junto con compatibilidad en HLA-DR y el desarrollo de rechazo crónico, mientras otros grupos no encuentran esta asociación. También se ha informado de que el *status* genético HLA-DQ del receptor podría ser importante en el desencadenamiento de rechazo agudo. También determinadas moléculas costimuladoras y sHLA (HLA soluble) podrían jugar un papel en el desarrollo de rechazo agudo de hígado, así como la compatibilidad en el locus

HLA-C, recientemente informado su papel en este tipo de trasplante, abriendo una vía de estudio a este gen tan poco estudiado en el trasplante de órganos en general.

5.3.2. Aspectos metodológicos de una guardia de trasplante hepático

Dada la escasa relevancia de las barreras de histocompatibilidad en este tipo de trasplantes, no existen indicaciones de la EFI que sean obligatorias ni respecto al tipaje ni respecto a estudios de presensibilización o pruebas cruzadas.

Aunque no sea mandatorio, como en los receptores renales o cardíacos, podría ser interesante para una visión de futuro realizar una lista de espera con datos de *presensibilización pretrasplante*, sobre todo con vistas a pacientes que puedan requerir un retrasplante. Sin embargo, se trata de estudios que requieren mucho tiempo, son caros y su utilidad no está bien establecida.

La existencia de una prueba cruzada positiva tampoco parece claramente influir en el desarrollo de rechazo. En este sentido en los últimos años han aparecido publicaciones que sugieren su influencia en la supervivencia del injerto, por lo que puede ser realizada retrospectivamente.

Sólo en los casos que reciben un *trasplante combinado hígado-riñón* debería hacerse el tipaje rutinario, en cuyo caso es igualmente útil hacer un *estudio urgente de presensibilización* cuando el paciente no figure en lista de espera renal (similarmente a lo expuesto en trasplante cardíaco). Optativamente, podría ofrecerse a los pacientes que tengan anticuerpos sensibilizantes frente al primer órgano recibido, para tratar de evitar una respuesta secundaria frente al antígeno sensibilizante que pueda compartir con un nuevo órgano injertado.

5.4. Trasplante Pulmonar

Este tipo de trasplante se realiza en enfermos con insuficiencias respiratorias severas y en enfermos con tumores de pulmón. Dado que la función pulmonar inadecuada, sobre todo cuando esta comprometida la perfusión, requiere un esfuerzo adicional del corazón, en muchos casos se realiza el trasplante combinado corazón-pulmón.

Después del trasplante de pulmón hay una alta incidencia de rechazo agudo y crónico que parece ser más alta que la observada en otros aloinjertos de órganos sólidos. De todas formas, aunque son comunes estos episodios de rechazo agudo son raramente fatales y tienden a responder favorablemente a un incremento de la inmunosupresión.

Por contra, el síndrome de bronquiolitis obliterativa (BOS), generalmente considerada como representante de rechazo crónico de este tipo de injerto, responde muy pobremente al aumento de inmunosupresión, y es la principal causa de la morbilidad y mortalidad post-trasplante. Los anticuerpos citotóxicos anti-HLA de clase I se han asociado con el desarrollo de BOS y una peor supervivencia. Algunos autores sugieren también un papel negativo de los anticuerpos anti-HLA de clase II.

En este tipo de trasplante, el único factor de riesgo de rechazo temprano es la presencia de una o más incompatibilidades en HLA-DR. Por otro lado, receptores con mayor identidad HLA-B tienen una más baja tasa de rechazo en el primer año post-trasplante, y la incompatibilidad para HLA-A, -B y -DR también se ha asociado con el desarrollo y severidad del BOS. Para los pacientes trasplantados la supervivencia del injerto mejora a mayor compatibilidad HLA. Sin embargo, la identidad HLA se ha asociado al desarrollo de la enfermedad linfoproliferativa post-trasplante.

Por todo lo anteriormente expuesto, en el trasplante de pulmón se debería seguir las indicaciones metodológicas apuntadas para el trasplante cardíaco.

5.5. Trasplante Pancreático

Los problemas más serios a los que se enfrenta este trasplante son de tipo quirúrgico, por las dificultades que presenta la canalización permanente de la secreción exocrina pancreática y la trombosis frecuente que sufren los vasos sanguíneos tras el trasplante. Otros factores pueden afectar el resultado del trasplante son el tiempo de isquemia y el rechazo. Habitualmente se realiza a pacientes diabéticos con fallo renal como una solución combinada a su diabetes y a su uremia como trasplante conjunto de riñón y páncreas, aplicándose el mismo protocolo que a los pacientes renales.

Los informes de compatibilidad HLA en trasplante de páncreas han sido variables y confusos, aunque esto puede ser debido al número relativamente pequeño de pacientes analizados en los grupos de estudio. Se reconoce el papel de los anticuerpos HLA en el desarrollo de rechazo. La compatibilidad HLA en páncreas muestra una mejora moderada de la supervivencia. En páncreas-riñón seguiría la pauta de lo apuntado para riñón

5.6. Trasplante de Cornea

La cornea siempre se ha pensado que es un órgano inmunologicamente privilegiado. Esto se asumió de la teoría de que la cornea era no antigénica y avascular, y por tanto incapaz de inducir una respuesta aloinmune en caso de trasplante. Sin embargo, el trasplante de cornea desarrolla rechazo inmunológico en un número considerable de casos. Los pacientes con corneas vascularizadas debido a infecciones o rechazos previos tienen un mayor riesgo de rechazo del injerto.

En cuanto al papel de los anticuerpos HLA, algunos estudios no observan influencia de prueba cruzada positiva en el trasplante, pero otros muestran que los pacientes trasplantados con prueba cruzada positiva tienen un mayor riesgo de rechazo endotelial corneal.

Con respecto a la compatibilidad HLA se ha notificado, por bastantes grupos de investigación, el efecto benéfico de la identidad HLA-A, -B y -DR, en estudios retrospectivos para prevenir el rechazo y mejorar la supervivencia del aloinjerto, tanto en pacientes de riesgo como en situación normal. Incluso algunos plantean el uso de la compatibilidad a nivel de tipaje de split y lista de espera basada en tipaje HLA. Algún grupo no revela ningún efecto significativo.

5.7. Trasplante de Médula ósea

Los trasplantes de médula ósea se vienen realizando desde hace 30 años y anualmente más de 30.000 pacientes se benefician de un trasplante con médula ósea de un donante familiar, de un donante no relacionado (ambos alogénicos) o de su propia médula (autólogo).

Los resultados han mejorado con el tiempo pero muchos pacientes mueren aún hoy de rechazo del injerto, de enfermedad de injerto contra huésped (GVHD), de recaída de la enfermedad original o de complicaciones relacionadas con el trasplante, especialmente infecciones.

El trasplante de médula tiene 2 limitaciones principales:

- Donante y receptor deben de ser casi *idénticos* con respecto al sistema HLA. Por tanto, hasta el final de los 80 casi todos los trasplantes se realizaban con miembros familiares que habían heredado la misma dotación genética (haplotipos) que el receptor.
- La segunda limitación es que solamente el 40% de pacientes tienen un donante familiar compatible.

Para intentar solventar esta última limitación, aparecen los registros de donantes voluntarios de médula ósea (no relacionado). Actualmente se disponen de más de 8 millones de donantes en todo el mundo repartidos en 54 registros.

De todas maneras, debido al extremo polimorfismo del sistema HLA, solamente un 60% de los pacientes sin un donante familiar (36% de todos los pacientes) encuentran un donante no relacionado compatible. Otra vez nos encontramos con 2 problemas:

- Definir criterios por los cuales donante y receptor pueden ser considerados “HLA compatibles”.
- Decidir que hacer con el 24% de pacientes que ni tienen un donante familiar, ni no relacionado, compatibles.

Todavía no hay un consenso internacional acerca de como debería de ser un donante compatible con el receptor. La familia multigénica HLA tiene al menos 12 loci polimórficos e incompatibilidades en cualquiera de esos loci podrían conducir a un GVHD. Los criterios de selección final del donante dependen entre otros factores también de la edad del paciente:

- Para pacientes hasta 55 años se requiere donante idéntico para HLA-A, -B y -DRB1.
- Los pacientes menores de 35 años, si no consiguen el donante idéntico, pueden ser trasplantados de un donante que difiera en no más de una incompatibilidad *menor* en HLA-A, -B y -DR. Una incompatibilidad *menor* en HLA-A y -B se define como 2 antígenos que pertenecen al mismo CREG. Una incompatibilidad *menor* en DR se define como un par de alelos DRB1 que codifican la misma especificidad DR serológica, por ejemplo DRB1*0401 vs. DRB1*0404.

Hoy en día se acepta que la compatibilidad para los alelos DRB1 y DQB1 tiene una relevancia significativa en el riesgo de desarrollar un GVHD. De este modo, la GVHD severa incrementa en trasplantes incompatibles para alelos DRB1, incluso aunque sean del mismo grupo serológico. La incompatibilidad en DQB1 también incrementa el riesgo de GVHD, aunque está más en discusión.

Entre trasplantes de donante no relacionado, la incompatibilidad para DRB1 y DQB1 aumenta la incidencia de GVHD severa. En estudios recientes, se también se demuestra que la incompatibilidad en alelos HLA-A y -C también incrementa el riesgo de GVHD. Y, por otro lado, la incompatibilidad para alelos HLA-A, -B ó -C incrementa significativamente el riesgo de fallo del injerto. Asimismo, incompatibilidad para HLA-A, -B, -C y DRB1 se asocia significativamente con una peor supervivencia del injerto.

Como regla general, la incompatibilidad para un antígeno HLA tiene peores consecuencias clínicas que para un alelo, y el efecto de la incompatibilidad es acumulativo con múltiples alelos. El problema sería que la demanda de extremada rigurosidad puede prevenir el acceso al trasplante. Los límites permisibles de disparidad genética diferirán respecto a la enfermedad de base y el estadio de la enfermedad. Así, pacientes con enfermedad de alto riesgo en estado avanzado tendrán posiblemente que tolerar el riesgo asociado al uso de donantes incompatibles más que el riesgo superior de la enfermedad sin trasplante.

En este tipo de trasplante se han mostrado que determinados polimorfismos de *sistemas menores de histocompatibilidad* pueden jugar un papel importante en el desarrollo de GVHD, en pacientes trasplantados en identidad HLA con el donante, entre ellos, HA-1, HPA1-5, etc.

6. Perspectivas futuras

Existen una serie de protocolos multicéntricos, así como tendencias de investigación en todo el mundo para desentrañar los mecanismos que permitan optimizar la buena evolución de un trasplante. Entre éstas encontramos:

- *Estudios de los antígenos HLA no clásicos.* Entre estas, los estudios de las moléculas HLA no clásicas como HLA-E ó G. Así, se ha apuntado que la mayor expresión de HLA-G en trasplante cardiaco previene el rechazo agudo y crónico. También se ha apuntado su papel benéfico para establecer tolerancia en trasplante de cornea y de hígado. Por otro lado, la molécula polimórfica MICA (cadena A relacionada con MHC de clase I), se ha mostrado como una diana para aloanticuerpos específicos en el suero de receptores de riñón, corazón y pulmón, aunque su papel durante el rechazo queda por demostrar.
- *Estudio de aparición de anticuerpos HLA post-trasplante.* Los estudios de monitorización relacionando la aparición de anticuerpos DSA con el desarrollo de rechazo vascular y rechazo crónico, sobre todo en trasplante renal, cardiaco y pulmonar, se están estableciendo como práctica a desarrollar en el futuro en los centros de trasplante. Asimismo es importante desentrañar si los anticuerpos anti-HLA de clase II contribuyen claramente a los procesos en estudio.
- *Estudios del papel de anticuerpos no HLA en trasplante.* Entre éstos, los anticuerpos anti-células endoteliales (AECA), anticuerpos anti-vimentina (una proteína del citoesqueleto), RPL7 (una proteína ribosómica), anticuerpos anti-membrana basal del glomérulo (GBM), HSP60, HPA1-5 (antígeno plaquetar) o neuropilina están en estudio en trasplante renal y cardiaco.
- *Estudios de otras moléculas no HLA en trasplante.* Entre otros, estudios de polimorfismos de genes de citoquinas y sus receptores, moléculas de adhesión, factores de crecimiento, reguladores metabólicos, o proteínas implicadas en respuestas inmunitarias, innatas o adquiridas, y apoptosis (tales como perforina, granzimas, CD1, genes Toll, TLR, MBP, MPO, etc) pueden tener un papel importante en la evolución de un trasplante.
- *Estudio de otros sistemas de histocompatibilidad menores en trasplante.* Entre estos, por citar alguno, como ejemplo, los sistemas HA-1 y HPA1-5 en trasplante de médula ósea, o la enzima GSTT1 (glutathion S-transferasa de la clase theta), recientemente descrito, que se comporta como aloantígeno y que da lugar a la formación de aloanticuerpos.
- *Estudios de genes KIR en trasplante.* El estudio de esta familia génica esta en pleno proceso de experimentación. Estos KIR regulan la actividad de las células NK y algunas células T, y su ligando predominante es HLA-C. En trasplante de médula ósea parecen jugar un papel interesante, y es de esperar que en trasplante de órganos sólidos también sea así.

7. Bibliografía

- 1 Mehra MR, Uber PA, Uber WE, Scott RL, Park MH. Allosensitization in heart transplantation: implications and management strategies. *Curr Opin Cardiol* 2003; 18: 153-158.
- 2 Cecka JM. The role of HLA in renal transplantation. *Hum Immunol* 1997; 56: 6-16.
- 3 Takemoto SK, Zeevi A, Feng S, et al. National conference to assess antibody-mediated rejection in solid organ transplantation. *Am J Transplant* 2004; 4: 1033-1041.
- 4 Terasaki PI, Ozawa M. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial. *Am J Transplant* 2004; 4: 438-443.
- 5 Sasazuki T, Juji T, Morishima Y, et al. Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor. *N Engl J Med* 1998; 339: 1177-1185.

- 6 Van Rood JJ, Oudshoorn M. The quest for a bone marrow donor-optimal or maximal HLA matching?. *N Engl J Med* 1998; 339: 1238-1239.
- 7 Taylor CJ, Smith SI, Sharples LD, et al. Human leucocyte antigen compatibility in heart transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 1346-1351.
- 8 Donaldson PT, Williams R. Cross-matching in liver transplantation. *Transplantation* 1997; 63: 789-794.
- 9 Ontañón J, Muro M, García-Alonso AM, et al. Effect of partial HLA-Class I match on acute rejection in viral preinfected human liver allograft recipients. *Transplantation* 1998; 65: 1047-1053.
- 10 Schulman LL, Weinberg AD, McGregor et al. Mismatches at the HLA-DR and HLA-B loci are risk factors for acute rejection after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 1833-1837.
- 11 Sollinger HW, Odorico JS, Knechtle SJ, et al. Experience with 500 simultaneous pancreas-kidney transplants. *Ann Surg* 1998; 228: 284-296.
- 12 Gore SM, Vail A, Bradley BA, et al. HLA-DR matching in corneal transplantation. *Transplantation* 1995; 60: 1033-1039.