

INSTITUTO SUPERIOR DE CIENCIAS MÉDICAS
“DR. SERAFÍN RUIZ DE ZÁRATE RUIZ”
SANTA CLARA, VILLA CLARA

COMUNICACIÓN

CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA HLA CLASE I DE PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA.

Por:

Lic. Douglas Fernández Caraballo¹, MSc. Ronal Ramos de Armas², Dr. Frank Quintana Gómez³ y Tec. Danay Heredia Ruiz⁴

1. Licenciado en Bioquímica. ISCM-VC.
2. Master en Bioquímica. Instructor. UCVL.
3. Especialista de I Grado en Inmunología. Instructor. ISCM-VC.
4. Técnico en Laboratorio Clínico. ISCM-VC.

Descriptor DeCS:

INSUFICIENCIA RENAL CRONICA/inmunología
ANTIGENOS HLA

Subject headings:

KIDNEY FAILURE, CHRONIC/immunology
HLA ANTIGENS

Todo organismo vivo, tanto animales como humanos, presenta antígenos de histocompatibilidad que lo diferencia de otras especies, y dentro de la misma especie de otros individuos. En el ser humano es conocido como sistema HLA (Human Leukocytes Antigens), el cual está constituido por proteínas localizadas en la superficie de las células blancas de la sangre y en otros tejidos del organismo^{1,2}.

Existen dos clases de HLA, bien diferenciadas estructural y funcionalmente; estas son: HLA I y HLA II. Dentro de estas dos clases de HLA se encuentran grupos clásicos, que en el caso del HLA I, son: el A, el B y el C, y en el HLA II: los DP, DQ y DR (3). Cada uno de estos grupos contiene una variada cantidad de proteínas HLA específicas designadas numéricamente, por lo que un individuo puede ser HLA-A1, mientras que otro puede clasificarse como HLA-A2⁴.

Este sistema es heredado codominantemente como un conjunto que contiene los grupos HLA clásicos antes dichos, y recibe el nombre de haplotipo. Un individuo hereda un haplotipo de cada uno de sus progenitores; existe un total de cuatro diferentes combinaciones de haplotipos para una pareja determinada⁵.

Las múltiples combinaciones que existen entre los diferentes antígenos HLA hacen que una semejanza completa de estos solo se produzca entre gemelos univitelinos, o por el azar, una vez por cada varios miles de trasplantes.

La compatibilidad HLA entre el donante y el receptor mejora los resultados del trasplante a largo plazo, ya que se ha demostrado que los trasplantes realizados con cinco compatibilidades tienen una mejor supervivencia que los que tienen una sola compatibilidad⁶.

El trasplante renal entre seres humanos puede ser realizado con un órgano procedente de un donante vivo, generalmente entre padres e hijos o entre hermanos, o procedentes de cadáver^{7,8}. Una vez conocido el HLA del donante, –en la donación de vivos se conoce previamente–, se deben buscar los receptores de mejor compatibilidad.

En nuestro trabajo realizamos la caracterización del sistema HLA clase I locus A y B de los receptores de riñón de las provincias de Villa Clara, Sancti Spiritus y Cienfuegos.

El estudio se realizó en linfocitos, los cuales fueron aislados en muestras de sangre total heparinizada, provenientes de 134 pacientes receptores de riñón de las provincias centrales del país.

El aislamiento de linfocitos se realizó a partir de 5 ml de sangre heparinizada, que fueron mezclados con 5 ml de PBS 5X (40 g de NaCl, 7,5 g de Na₂HPO₄, 1g de KH₂PO₄, 1g de KCl y 1g de NaN₃ pH 7,2-7,4). Posteriormente, un volumen de 5 ml de la mezcla anterior fue colocada sobre 1,5 ml de Ficoll 400/Telebrix (=1,077 g/cm³) y centrifugada a 1800 rpm, durante 20 minutos a 20°C en una centrífuga refrigerada IEC-Centra-7R. Una vez extraído el anillo de linfocitos con pipeta Pasteur, se procedió a realizar lavados mediante centrifugación a 1800 rpm, por 10 minutos a 4°C, en los que se utilizó PBS 5X y se desechó el sobrenadante.

Después de tres lavados, los linfocitos se diluyeron en 1 ml de PBS 5X y se ajustaron a una concentración de 2000 células/μl.

Una vez alcanzada la concentración de linfocitos requerida, estos fueron sometidos a una prueba de microlinfotoxicidad de Terasaki⁹. Se emplearon placas de Terasaki de 60 pocillos, previamente preparadas con antisueros para cada especificidad de HLA-A y HLA-B (tabla 1).

Tabla 1 Bateria de antisueros empleada para la caracterización del sistema HLA-A y HLA-B de receptores de riñón de las provincias centrales del país.

No.	A	B	C	D	E	F
1	CN	CP	A1	A2	A69+2	A68
2	A10	A24	A23	A9	A3	A28
3	A25	A26	A66+10	A11	A2	A29
4	A28	A34	A33+34+38	A32	A29	A30
5	A5+78	B51	B52	B7	B8	B12
6	B8	B17	B14	B13	B70,62,45,50	B46+75
7	B15	B50+62	B70,62,45,50	B7	B39	B17
8	B42+22	B53,52,49	B21	B14	B48	B57+58
9	B27	B35+75	B37	B40	B61,48,60,47,13	B41
10	B15	B40	B73	B67+39	B48	B46+75

La prueba se realizó añadiendo 1 μl de suspensión celular en cada pocillo, con pipeta de Hamilton de 50 μl y se incubó a 22°C durante 30 minutos. Posteriormente, se le suministró 5 μl de suero de conejo como fuente de complemento (BETERA liofilizado), con pipeta de Hamilton de 250 μl y se incubó a 22°C por una hora. Luego se procedió a colorear con eosina (5 μl), se dejó reposar durante 3 minutos, y se concluyó con la adición de 5 μl de formalina (pH 7,4).

Después de transcurridos 20 minutos, se procedió a leer con microscopio invertido de contraste de fase (OLYMPUS). El criterio de positividad de la prueba se obtuvo por el por ciento de lisis celular.

En nuestro trabajo fueron caracterizados un total de 134 pacientes de la región central del país; de ellos, 86 fueron de Villa Clara (tabla 2), 28 de Sancti Spíritus (tabla 3) y 20 de Cienfuegos (tabla 4).

Tabla 2 Muestra de los receptores de riñón con sistema HLA-A y HLA-B caracterizados, pertenecientes a la provincia de Villa Clara.

No.	Tipaje HLA	No.	Tipaje HLA
1	A24(9); A28: B64(14); B17	27	A2; A28: B46; B8
2	A3; A11: B22; B18	28	A25; A32: B45; B18
3	A26(10); A19: B38(16); B49(21)	29	A2; A24: B47; B49
4	A3; A36: B45(12); B17	30	A2; A23: B39; B7
5	A2; A10: B18; B41	31	A11; A19: B49(21); B60(40)
6	A2; A28: B7; B35	32	A9; A31: B44; B39
7	A1; A10: B7; B8	33	A11; A19: B49; B60
8	A10; A19: B52(5); B15	34	A19; A68(28): B7; B38
9	A9; A29(19): B12; B35	35	A24(9); A11: B49(21); B40
10	A25(10); A32(19): B45(12); B18	36	A1; A23: B13; B14
11	A26(10); A36: B44(12); B17	37	A2; A29: B57; B62
12	A2; A19: B64(14); B49(21)	38	A2; A19: B64(14); B49(21)
13	A2; A9: B16; B18	39	A1; A29(19): B44(12); B8
14	A3; A11: B14; B5	40	A1; A2: B8; B17
15	A68(28); A19: B45(12); B64(14)	41	A23(9), A10 : B5, B8
16	A2; A11: B49(21); B48	42	A23(9), A28 : B13; B38(16)
17	A25(10); A9: B64(14); B17	43	A3; A33(19): B8; B18
18	A1; A9: B8; B35	44	A69(28); A9: B15; B38
19	A9; A31(19): B44(12); B39(16)	45	A68(28); A10: B38(16); B14
20	A24(9); A2: B60(40); B63(15)	46	A68(28); A29(19): B7; B8
21	A1; A29: B44(12); B17	47	A2; A28: B5; B38(16)
22	A68(28); A19: B64(14); B63(15)	48	A2; A19: B44(12); B64(14)
23	A1; A24(9): B8; B35	49	A3; A30: B38(16); B18
24	A2; A24(9): B44(12); B49(21)	50	A2; A24(9): B49(21); B47
25	A2; A69(28): B44(12); B13	51	A24(9); A32(19): B63(15); B39(16)
26	A3; A29(19): B64(14); B12	52	A2; A29(19): B51(5); B49(21)

Tabla 3 Muestra de los receptores de riñón del sistema HLA-A y HLA-B caracterizados, pertenecientes a la provincia de Sancti Spiritus.

No	Tipaje HLA	No	Tipaje HLA
1	A1; A2: B17; B78	9	A9; A11: B52(5); B49(21)
2	A1; A19: B5; B18	10	A31(19); A19: B16; B49(21)
3	A3; A68: B64(14); B60(40)	11	A1; A30: B8; B35
4	A68; A11: B35; B75	12	A9; A19: B44(12); B64(14)
5	A68(28); A24(9): B49(21); B73	13	A26(10); A30(19): B8; B64(14)
6	A2; A9: B7; B45(12)	14	A11; A32(19): B51(5); B49(21)
7	A2; A30: B35; B75	15	A3; A31(19): B7; B35
8	A1; A29(19): B44(12); B73	16	A2; A31(9): B18; B16

Tabla 4 Muestra de los receptores de riñón del sistema HLA-A y HLA-B caracterizados pertenecientes a la provincia de Cienfuegos.

No.	Tipaje HLA	No.	Tipaje HLA
1	A1; A31(19): B52(5); B18	7	A2; A2: B35; B16
2	A25(10); A32(19): B18; B49(21)	8	A2; A28: B13; B73
3	A1; A9: B8; B12	9	A1; A2: B49(21); B52(5)
4	A10; A30(19): B13; B64(14)	10	A24(9); A19: B27; B44(12)
5	A1; A24(9): B44(12); B7	11	A24(9); A32(19): B17; B35
6	A1; A34(10): B8; B35	12	A1; A36: B17; B35

Finalmente, quedó creado el perfil de histocompatibilidad del sistema HLA clase I de los receptores de riñón de la región central del país, lo que nos permite contar con una base de datos para futuros estudios poblacionales de la frecuencia de determinados alelos del sistema HLA en nuestra región, y su relación con enfermedades renales. Asimismo, esta base de datos nos permitirá realizar estudios del comportamiento del trasplante renal en nuestra región y su comparación con otras del país.

Referencias bibliográficas

1. Zorn E, Miklos DB, Floyd BH, Mattes-Ritz A, Guo L, Soiffer RJ. Minor histocompatibility antigen DBY elicits a coordinated B and T cell response after allogeneic stem cell transplantation. *J Exp Med.* 2004 Apr 19;199(8):1133-42.
2. Matinlauri IH, Kyllonen LE, Eklund BH, Koskimies SA, Salmela KT. Weak humoral posttransplant alloresponse after a well-HLA-matched cadaveric kidney transplantation. *Transplantation.* 2004 Jul 27;78(2):198-204.
3. Koelman CA, van Beelen E, Witvliet MD, Doxiadis II, Claas FH. Determination of acceptable HLA mismatches in highly sensitised patients by soluble HLA class I ELISA inhibition. *Transplantation.* 2000 Feb 27;69(4):656-60.
4. Bodmer WF. HLA polymorphism: origen and maintenance. En: Bidwell JL, Navarrete C, editors. *Histocompatibility testing.* London: Imperial College Press; 2000. p. 1-9.
5. Gloor JM, DeGoey S, Ploeger N, Gebel H, Bray R, Moore SB. Persistence of low levels of alloantibody after desensitization in crossmatch-positive living-donor kidney transplantation. *Transplantation.* 2004 Jul 27;78(2):221-7.
6. Visentainer JE, Lieber SR, Persoli LB, de Souza Lima SC, Vigorito AC, Aranha FJ, et al. Correlation of mixed lymphocyte culture with chronic graft-versus host disease following allogeneic stem cell transplantation. *Braz J Med Biol Res.* 2002;35(5):567-72.
7. Emonds MP, Herman J, Dendievel J, Waer M, Van Damme-Lombaerts R. Evaluation of anti-human leukocyte antigen allo-immunization in pediatric cadaveric kidney transplantation. *Pediatr Transplant.* 2000 Feb;4(1):6-11.
8. Hiesse C, Kriaa F, Rousseau P. Immunoabsorption of anti- HLA antibodies for highly sensitized patients awaiting transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;7:944-51.
9. Terasaki L. Microdot testing for HLA -B-C and -D antigens. *J Clin Pathol.* 1978;69-105.