

Sistema HLA y Trasplante Renal

Inmaculada Ruíz Jaén
A.T.S. de Hematología de la Ciudad Sanitaria
«La Fe» de Valencia.

SISTEMA H.L.A. Y TRASPLANTE

El sistema H.L.A., es el sistema mayor de histocompatibilidad, está genéticamente codificado en los brazos cortos del cromosoma 6, es un sistema antigénico polimorfo, que juega un importante papel en el mecanismo de la respuesta inmune.

Se hereda de forma mendeliana codominante y es controlado por diferentes locus genéticos: locus A., locus B., locus C., y locus D/DR.

Todo individuo posee dos antígenos por cada locus, cada uno de los antígenos son heredados por un cromosoma. Así pues, cuatro antígenos son heredados por el haplotipo paterno y los otros cuatro por el haplotipo materno. Se entiende por haplotipo, al conjunto de genes pertenecientes a un sistema que se hereda en un mismo cromosoma. Así, un individuo poseerá dos haplotipos: el paterno y el materno.

Los locus A., B., y C., se definen serológicamente, por técnicas de micro-linfocitotoxicidad sobre linfocitos totales. En el VIII Workshop de histocompatibilidad, se han descrito los siguientes alelos para estos locus: locus HLA—A 19 antígenos, locus HLA—B 40 antígenos, locus HLA—C 8 antígenos.

El locus HLA—D/DR, es una estructura compleja, donde pueden estar ubicados los genes de la respuesta inmune, siendo igualmente complejo su estudio. Este locus se define por métodos celulares (CML y PLT) y serológicos (microlinfocitotoxicidad sobre linfocitos B), los siguientes alelos: once HLA-DW y diez HLA-DR, no existiendo una correlación absolu-

ta entre los diferentes antígenos HLA-DW/DR.

Las técnicas que nosotros realizamos para el estudio del sistema HLA., son:

—Microlinfocitotoxicidad, tipaje HLA locus ABC locus D/DR

—C.M.L. (DW)

—Obtención de antisueros y escrutinio de anticuerpos citotóxicos de enfermos.

Para realizar un tipaje HLA, primeramente tendremos que proceder a la separación de linfocitos, partiendo de sangre total heparinizada, ya que este sistema está más que representado en los linfocitos. Una vez obtenidos estos linfocitos, los enfrentaremos a una batería que posee unos sueros determinados, enfrentando así antígeno y anticuerpo. Mediante el complemento de conejo, se efectúa una lisis de la membrana celular en la que ha existido una especificidad antígeno anticuerpo y hace que un colorante para nosotros vital que es la eosina, tiña las células. A los 5 minutos se para la tinción con formaldeído, para que así sólo se hayan podido teñir las células muertas, quedando las vivas sin teñir y distinguirlas así perfectamente en el microscopio.

Habremos obtenido de esta manera, el tipaje al locus ABC, pero no al locus D.

Existen dos poblaciones de linfocitos T y B y para poder realizar un tipaje completo a los cuatro locus ABC y D, tendremos que hacer una separación de estas dos poblaciones, ya que el locus ABC está representado

en los linfocitos T y B y el locus DR sólo en los linfocitos B. La separación de linfocitos B puede realizarse por varias técnicas. En nuestro medio utilizamos la propiedad de adherirse a la fibra de Nylon. Una vez obtenidos los linfocitos totales, los introducimos en una columna de plástico llena de fibra de Nylon. Después y previa incubación de las células, se separan los linfocitos T y B.

El cultivo mixto de linfocitos es otra técnica diferente para explorar el locus D.

Cuando se ponen en cultivo dos poblaciones linfocitarias de individuos antigénicamente diferentes al locus D, se produce una proliferación de estas células, que podemos medir por la incorporación de Timidina marcada en el D.N.A. Al enfrentar unas poblaciones linfocitarias a otras mitonizadas, es decir bloqueando su capacidad de proliferación, nos dará el índice de incompatibilidad al locus D.

Si detectamos altos índices de captación de Timidina, el cultivo será positivo, si no hay captación, no ha habido respuesta proliferativa, que indica una identidad al locus D.

La obtención de sueros con un determinado anticuerpo, nos va a servir para confeccionar nuestras propias baterías de tipajes. Las obtenemos, generalmente, de los sueros procedentes de gestantes previamente estudiadas.

Los anticuerpos HLA, raramente persisten en el suero de las mujeres una vez han dado a luz, desapareciendo en 1 ó 2 meses. La persistencia de un anticuerpo, constituye una fuente interesante de suero.

El escrutinio de anticuerpos citotóxicos es la técnica del estudio de los sueros, mediante ella obtendremos muestras antisueros de trabajo, ya mencionados anteriormente y detectaremos los probables anticuerpos que hayan podido hacer los enfermos como respuesta a diversas transformaciones.

La técnica consiste en que, partiendo de un panel equilibrado de linfocitos con todos los antígenos al locus ABC y enfrentado ante los sueros problema, nos dará una reacción positiva o negativa a uno, varios o ninguno de esos antígenos. Si una vez efectuada la lectura al microscopio de esta prueba, el resultado de ella fuera toda negativa, diríamos que se trata de un suero negativo. Si no fuera así y hubiera alguna positividad en ella, estaríamos ante un suero positivo. Según a las células con las que hubiera reaccionado positivamente diríamos que se trata de una u otra especificidad antigénica, pero si la reacción positiva fuera imprecisa y desordenada, nos encontraríamos ante un suero positivo multiespecífico o inespecífico.

Como ya he dicho antes, al sistema HLA se le denomina el sistema Mayor de Histocompatibilidad, pero en realidad no es tal. Son sistemas antigénicos que tienen gran importancia en el reconocimiento de las células, tienen una enorme importancia en la cooperación celular y sirven como mediadores para la intercomunicación de unas células con otras. Esencialmente pues, el sistema HLA es un sistema de gran importancia biológica celular y ha sido el hombre quien lo ha convertido en el sistema Mayor de Histocompatibilidad, ya que el trasplante es un artefacto terapéutico introducido por el hombre. Por lo tanto, os diré que el sistema HLA tiene, además del trasplante, otras funciones y otros papeles, aunque es del trasplante y concretamente del trasplante renal, del que os voy a hablar.

Hoy en día se observa una correlación positiva entre la identidad HLA y la mayor supervivencia del riñón tras-

plantado. A medida que ha ido avanzando el tiempo, se han ido aceptando diferentes criterios respecto a la identidad de los locus, hasta llegar al momento actual que existe una tendencia primordial a trasplantar con igual identidad DR.

Las transfusiones sanguíneas, juegan un papel importante en los trabajos de trasplantes de riñón, ya que los riñones de los enfermos previamente trasfundidos, tienen una mejor supervivencia que los de los pacientes no trasfundidos. Por lo tanto, en la actualidad, la transfusión sanguínea, se realiza como condición necesaria para la preparación del receptor y casi ha desplazado esta teoría la identidad HLA. El número y el momento de la transfusión es discutido. Aquí empleamos 5 transfusiones cada 30 días y una de recuerdo a los 6 meses.

Las causas beneficiosas de la transfusión, no se conocen con certeza y existen muchas hipótesis para explicar este fenómeno; una de ellas es la que considera que las transfusiones provocan la producción de anticuerpos bloqueantes o facilitantes. También otros autores, defienden que a través de las transfusiones se crea un estado de tolerancia inmunológica.

Las transfusiones conllevan también, la posibilidad de la creación de anticuerpos anti HLA a los locus ABC o DR. Esta presencia de anticuerpos no son perjudiciales para la supervivencia del trasplante siempre, claro está, que no se hallen dirigidos contra los antígenos del donante.

Por lo tanto, es imprescindible conocer la especificidad del anticuerpo y, antes de proceder al trasplante, realizaremos siempre un cross-match (prueba cruzada), con todos los sueros almacenados del receptor que poseamos de cada transfusión y los enfrentaremos a los linfocitos del donante. Si uno de los sueros es positivo frente a estos linfocitos el trasplante está contraindicado y no se debe realizar.

De esto podéis deducir la importancia que tiene que los sueros de los enfermos se reciban correctamente a los quince días de la transfusión (este período de quince días es debido a que éste se considera el tiempo en que los anticuerpos hacen su aparición) en nuestro laboratorio HLA. Naturalmente, la muestra que mandéis debe ser de suero y no de plasma, ya que con él no podemos realizar ninguna prueba.

Para finalizar os voy a describir, brevemente lo que es una alarma de trasplante y cuales son los pasos a seguir para seleccionar al receptor.

Existe un posible donante. Una vez tramitados los requisitos necesarios, se establece la alarma de trasplante (Somos tres ATS, y uno de los tres estamos localizados siempre, mediante una *busca*), nos avisan. Llegamos al laboratorio junto al médico hematólogo que esté también de guardia de trasplante y comenzamos ya las reglas a seguir:

- 1º Grupo sanguíneo del donante
- 2º Si ha sido trasfundido o no

Si es O ya sabemos que los enfermos de momento que se pueden trasplantar van a ser a todos. Si es A, nos remitiremos a los del grupo A y AB, y si es B a los del B y AB, etc...

Si ha sido el posible donante trasfundido no podemos comenzar a realizar el Tipaje con sangre periférica, ya que en la lectura de él nos encontraremos con sus propios antígenos y los correspondientes a las transfusiones que le hayan puesxto. Nos tendremos que esperar a que se extraigan los riñones y nos manden un trozo de bazo.

Si, por el contrario no ha sido trasfundido, ya podemos comenzar a trabajar con sangre periférica. Empezaremos haciendo la separación de linfocitos totales. Una vez realizada ésta y mediante la técnica de fibras de nylon, como ya os he explicado anteriormente, separaremos linfocitos T y

B, y una vez separados, ya podemos realizar el tipaje. Con los linfos T tiparemos al locus A, B, C, y con los B al DR.

Una vez obtenido el tipaje y procedido a su lectura, nos remitiremos a las listas de los enfermos, posibles receptores, y nos basaremos en los siguientes criterios:

- 1.º Que el protocolo trasfusional sea correcto, 5 transfusiones, más la dosis de recuerdo.
- 2.º Que los sueros se nos hayan mandado correctamente y en su día después de las transfusiones.

3.º Que no tenga ningún anticuerpo dirigido contra ningún antígeno del donante.

4.º Identidad al locus DR.

5.º Identidad al locus ABC.

Una vez establecido este criterio y, ya junto con los nefrologos, se hace la selección de dos o tres posibles receptores. Se les avisa y, a su llegada, se realiza el cross-match (prueba cruzada) con el suero recibido en ese momento y con todos los que tengamos almacenados en nuestro laboratorio. Obteniendo, como final de la prueba, el receptor idóneo para este donante. Y ya, por nuestra parte, que

da finalizada lo que es una alarma de trasplante.

Este proceso lleva un promedio de 9 a 10 horas de duración desde que tenemos la alarma hasta que obtenemos la selección del receptor, sumando a ello el tiempo que tarde éste en venir y lo que tarde el cross-match, que viene a ser unas tres horas y media, resulta un promedio total de 15 a 17 horas, de ahí la importancia que hay en que estemos localizados y acudamos lo más pronto posible a nuestro laboratorio.