

# El complejo mayor de histocompatibilidad humano. Sistema HLA

SARA C. PARIS  
LUIS F. GARCIA

---

El complejo mayor de histocompatibilidad humano, o sistema HLA, está localizado en el brazo corto del cromosoma 6. Sus genes codifican tres tipos de moléculas. Los antígenos clase I (HLA-A, B, C y E) están formados por una cadena pesada unida no covalentemente a la  $\beta 2$ -microglobulina y se expresan en la superficie de la mayoría de las células nucleadas del organismo. Estos antígenos actúan como elementos de restricción en la activación de los linfocitos T CD8+. Los antígenos clase II son dímeros compuestos por cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  y su distribución tisular está limitada sólo a algunos tipos de células. Estas moléculas actúan restringiendo la presentación de antígenos a los linfocitos CD4+. Los antígenos de clase III son proteínas plasmáticas del sistema del complemento. Los diferentes loci del sistema HLA son muy polimórficos y sus productos se heredan en bloques conocidos como haplotipos. Debido a que los diferentes grupos étnicos presentan variaciones en la frecuencia de alelos y haplotipos, el HLA ha sido muy útil en los estudios antropogenéticos. Algunos an-

tígenos HLA están presentes en pacientes con determinadas enfermedades con una frecuencia significativamente diferente a la encontrada en la población general. Estos hallazgos han sido de gran importancia para comprender la patogénesis y los mecanismos genéticos de resistencia o susceptibilidad a dichas enfermedades. En el campo de los trasplantes de órganos, la compatibilidad HLA donante-receptor correlaciona con la supervivencia del injerto. El sistema HLA también parece tener mucha importancia en los fenómenos inmunológicos que ocurren durante el embarazo.

Debido a la gran importancia teórica y práctica del sistema HLA en genética, inmunología y medicina en general, su estudio continuará siendo un campo muy activo de investigación básica y clínica.

---

LIC. SARA CLAUDIA PARIS y DR. LUIS FERNANDO GARCIA,  
Laboratorio Central de Investigaciones, Centro de Investigaciones Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

PALABRAS CLAVES  
HLA  
GENES  
ANTIGENOS  
POBLACION  
TRANSPLANTES

## INTRODUCCION

El sistema genético más importante en la regulación de las reacciones inmunes es el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Se trata de un sistema de genes ligados, altamente polimórfico, que se ha conservado filogenéticamente y se ha podido demostrar en todos los vertebrados estudiados (1). El principal papel del CMH es el control de la expresión de moléculas de la superficie celular que actúan como marcadores de lo propio en el desarrollo de la respuesta inmune. Su polimorfismo, así como su papel en la respuesta inmune han hecho del CMH el sistema genético mejor conocido (especialmente en el caso del CMH murino o sistema H-2) y su estudio se ha aplicado a diferentes áreas como la inmunobiología, los trasplantes de órganos, la genética de poblaciones y los estudios de paternidad (2). La presente revisión pretende dar una visión global del CMH, específicamente de su equivalente en el ser humano, el sistema de antígenos de leucocitos humanos o HLA.

El HLA está localizado en el brazo corto del cromosoma 6 (p21.3) y corresponde al 0.1% del genoma humano, equivalente a alrededor de 3 centimorgans (cM) o  $3 \times 10^6$  pares de bases (bp) y contiene al menos 50 genes (1-4). Sus productos se expresan como caracteres autosómicos codominantes y se heredan en forma mendeliana. Las regiones, genes y productos del CMH están definidos como clase I, clase II o clase III de acuerdo a las propiedades de sus productos génicos (Figura N° 1), los cuales difieren en su estructura química, su distribución tisular, su función y la forma de detectarlos.

## NOMENCLATURA Y SEROLOGIA DEL SISTEMA HLA

La nomenclatura del sistema HLA está determinada por el Comité de Nomenclatura de los Talleres Internacionales de Histocompatibilidad (2,5). La re-

gión recibe el nombre de HLA, los genes y los antígenos codificados dentro de esta región son llamados HLA-A, HLA-B, HLA-Cw, HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP.

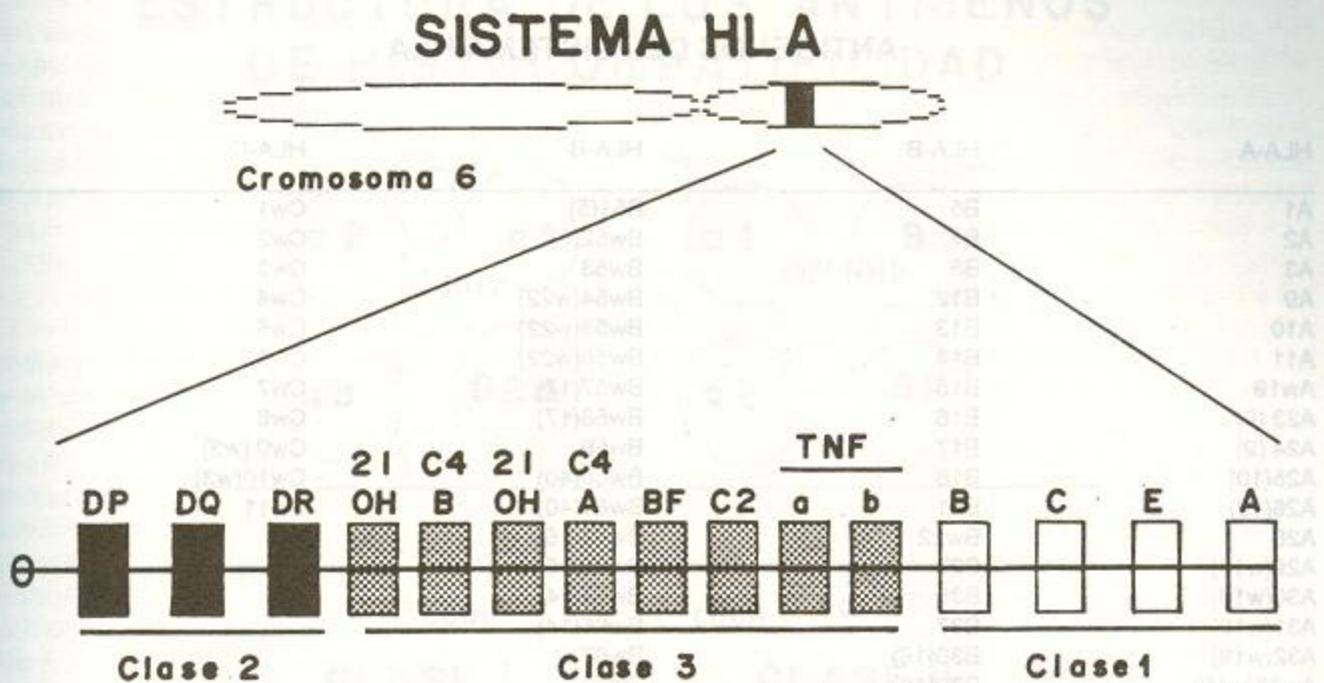
Para cada una de las especificidades individuales correspondientes a cada locus se escribe un número después de la letra que identifica el locus; por ejemplo: HLA-A1. Las especificidades de los loci HLA-A y HLA-B definidas serológicamente, se numeran en conjunto en una secuencia que no se repite. Los determinantes antigénicos HLA encontrados solamente en un alelo se denominan antígenos privados, mientras que los antígenos públicos son determinantes comunes a varias moléculas, cada una de las cuales corresponde a un antígeno HLA privado diferente (Tabla N° 1). Determinantes como el Bw4 y el Bw6 son antígenos públicos que agrupan cada uno un gran número de especificidades privadas del locus B; en cambio, otros antígenos públicos incluyen sólo un pequeño número de determinantes privados muy relacionados, cada uno con una especificidad más estrecha; estos últimos antígenos reciben el nombre de *división* (split) de la especificidad original más amplia. Los antígenos que son *división* se designan como tales seguidos de la denominación en paréntesis del antígeno del cual se originaron; ejemplo: HLA-A25(A10) y HLA-A26(A10) indican que el HLA-A25 y -A26 son divisiones del HLA-A10. El HLA-A10 puede ser considerado entonces como un antígeno público de las moléculas que llevan los antígenos privados HLA-A25 y -A26.

Los antígenos HLA también presentan grupos con reacciones serológicas cruzadas (2). Estos son llamados grupos de reacción cruzada; por ejemplo: el grupo B7 incluye: HLA-B7, Bw22 (con sus divisiones Bw54, Bw55 y Bw56), B27, B40 (Bw60 y Bw61) y Bw42.

La denominación de todos los genes y productos clase II está precedida por la letra D seguida por la letra P, Q o R correspondiente a la subregión. Los genes de las cadenas polipeptídicas  $\alpha$  o  $\beta$  se identifican con estas letras griegas, seguidas por un número cuando hay más de un gen para la cadena  $\alpha$  o  $\beta$  en la subregión; ejemplo HLA-DQ $\alpha$ 1B1.

La letra "w" (workshop) entre la denominación del locus y el número que indica el alelo es una identificación provisional que se utiliza cuando la especificidad no ha sido totalmente definida y desaparece cuando se logra identificación definitiva aceptada por

Figura N° 1



el Comité de Nomenclatura de los Talleres Internacionales de Histocompatibilidad. La designación "w" se utiliza también para los antígenos públicos HLA-Bw4 y Bw6 con el fin de diferenciarlos de las especificidades privadas; lo mismo en la serie antigénica HLA-Cw para distinguirlos de la nomenclatura de los factores del complemento; además, en las especificidades Dw definidas celularmente, para diferenciarlas de las definidas serológicamente.

En el caso de las moléculas clase III (1,2) cada una utiliza códigos propios basados en la movilidad electroforética (ejemplo: BfF, BfS), en su punto isoeléctrico (ejemplo: C2A, C2B) o en una secuencia numérica para cada uno de los alelos de los loci del C4 (ejemplo: C4A3, C4B5).

### GENES Y ANTIGENOS CLASE I

Estos genes están en los loci HLA-A, HLA-B, HLA-Cw y HLA-E dando origen a glicoproteínas de superficie celular (a excepción del locus HLA-E al que todavía no se le han identificado sus productos); tales glicoproteínas reciben el mismo nombre y corresponden a los antígenos clásicos de trasplantes. Los antígenos clase I están presentes en la membra-

na de todas las células nucleadas, incluyendo las plaquetas, con excepción de los espermatozoides, algunas células nerviosas y las células del trofoblasto (1).

Las moléculas clase I son glicoproteínas de membrana (Figura N° 2) de 44 Kilodaltons (Kd) llamadas cadenas  $\alpha$ , asociadas en forma no covalente con la  $\beta$ 2-microglobulina de 12 Kd, la cual es codificada en el brazo corto del cromosoma número 15 (1,2,6). El locus HLA-E, recientemente descrito (7), localizado entre los loci HLA-A y C sólo se conoce hasta el momento desde el punto de vista de la biología molecular; sin embargo, se ha postulado que puede corresponder a los genes clase I no polimórficos presentes en el sistema H-2 murino denominados Qa y TLA.

### CADENAS $\alpha$ CLASE I

Los genes de las cadenas  $\alpha$  (Figura N° 3) constan de 7 exones (secuencias codificables), correspondientes a los dominios polipeptídicos, separados por 6 intrones (regiones no codificables) (1,2,6). Los intrones poseen de 100 a 200 bp a excepción del tercero que posee aproximadamente 500 bp. El pri-

TABLA Nº 1

ANTIGENOS DEL SISTEMA HLA

HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C
A1	B5	B51(5)	Cw1
A2	B7	Bw52(5)	Cw2
A3	B8	Bw53	Cw3
A9	B12	Bw54(w22)	Cw4
A10	B13	Bw55(w22)	Cw5
A11	B14	Bw56(w22)	Cw6
Aw19	B15	Bw57(17)	Cw7
A23 (9)	B16	Bw58(17)	Cw8
A24 (9)	B17	Bw59	Cw9 (w3)
A25(10)	B18	Bw60(40)	Cw10(w3)
A26(10)	B21	Bw61(40)	Cw11
A28	Bw22	Bw62(15)	
A29(w19)	B27	Bw63(15)	
A30(w19)	B35	Bw64(14)	
A31(w19)	B37	Bw65(14)	
A32(w19)	B38(16)	Bw67	
Aw33(w19)	B39(16)	Bw70	
Aw34(10)	B40	Bw71(w70)	
Aw36	Bw41	Bw72(w70)	
Aw43	Bw42	Bw73	
Aw66(10)	B44(12)	Bw75(15)	
Aw68(28)	B45(12)	Bw76(15)	
Aw69(28)	Bw46	Bw77(15)	
Aw74(19)	Bw47		
	Bw48	Bw4	
	B49(21)	Bw6	
	B50(21)		

HLA-D	HLA-D	HLA-DP	HLA-DQ	HLA-DR
Dw1	Dw15	DPw1	DQw1	DR1
Dw2	Dw16	DPw2	DQw2	DR2
Dw3	Dw17(w7)	DPw3	DQw3	DR3
Dw4	Dw18(w6)	DPw4	DQw4	DR4
Dw5	Dw19(w6)	DPw5	DQw5(w1)	DR5
Dw6	Dw20	DPw6	DQw6(w1)	DRw6
Dw7	Dw21		DQw7(w3)	DR7
Dw8	Dw22		DQw8(w3)	DRw8
Dw9	Dw23		DQw9(w3)	DR9
Dw10	Dw24			
Dw11(7)	Dw25			
Dw12	Dw26			
DW13				
DW14				

10º Taller Internacional de Histocompatibilidad, 1987.

Figura Nº 2

## ESTRUCTURA DE LOS ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD

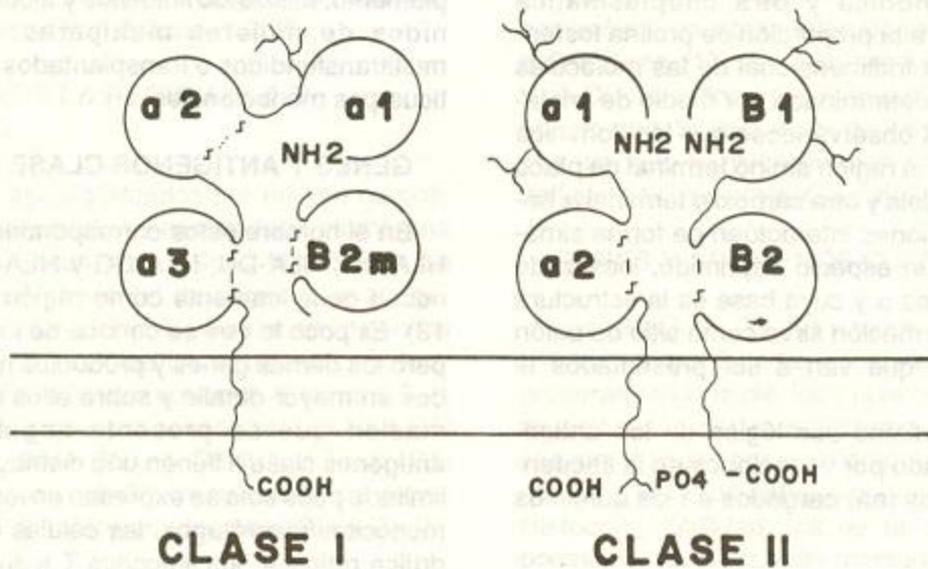
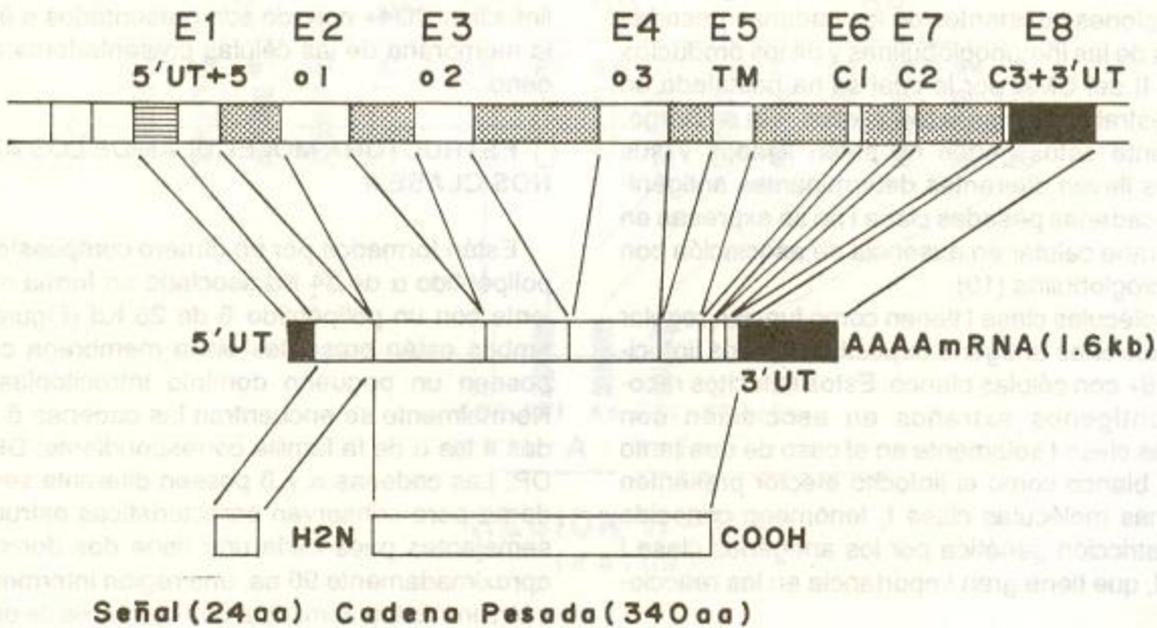


Figura Nº 3

## ORGANIZACION GENES HLA CLASE I



mer exón codifica para una secuencia líder que desaparece después de la translación y la inserción en la membrana celular.

La molécula  $\alpha$  clase I está formada por tres dominios extracelulares:  $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2 y  $\alpha$ -3; una región transmembrana hidrofóbica y otra citoplasmática hidrofílica con una alta proporción de prolina fosforilada. La estructura tridimensional de las moléculas HLA clase I se ha determinado por medio de cristalografía de rayos X observándose que los dominios  $\alpha$ -1 y  $\alpha$ -2 tienen una región amino terminal de placa plegada  $\beta$  antiparalela y otra carboxilo terminal  $\alpha$  hélice. Estas dos regiones interactúan de forma simétrica para formar un espacio deprimido, localizado entre las dos hélices  $\alpha$  y cuya base es la estructura  $\beta$  plegada. Esta formación sirve como sitio de unión para los péptidos que van a ser presentados al linfocito T (8,9).

El gran polimorfismo serológico de los antígenos clase I está dado por variaciones en la secuencia de amino ácidos (aa) cargados en los dominios  $\alpha$ -1 y  $\alpha$ -2.

## B2 MICROGLOBULINA

Es un polipéptido globular muy conservado filogenéticamente, de aproximadamente 100 aa, con una unión disulfuro intracadenaria, sintetizado por todas las células del organismo (1,2). La secuencia de aa y su estructura tridimensional son homólogas a las de las regiones constantes de las cadenas pesadas y livianas de las inmunoglobulinas y de los productos clase I y II del CMH por lo cual se ha postulado un gen ancestral común para todos ellos. Sin embargo, actualmente estos genes no están ligados y sus productos llevan diferentes determinantes antigénicos. Las cadenas pesadas clase I no se expresan en la membrana celular en ausencia de asociación con la  $\beta$ 2 microglobulina (10).

Las moléculas clase I tienen como función regular las interacciones antígeno específicas de los linfocitos T CD8+ con células blanco. Estos linfocitos reconocen antígenos extraños en asociación con moléculas clase I solamente en el caso de que tanto la célula blanco como el linfocito efector presenten las mismas moléculas clase I, fenómeno conocido como restricción genética por los antígenos clase I del CMH, que tiene gran importancia en las reaccio-

nes de citotoxicidad contra células infectadas por virus, antígenos tumorales y aloinjertos tisulares (1).

Los productos alélicos de los genes clase I son altamente antigénicos y se definen serológicamente por métodos de citotoxicidad dependiente de complemento, utilizando linfocitos y aloanticuerpos obtenidos de mujeres multíparas, de individuos multitransfundidos o transplantados e, inclusive, anticuerpos monoclonales.

## GENES Y ANTIGENOS CLASE II

En el hombre éstos corresponden a los HLA-DP, HLA-DO, HLA-DN, HLA-DQ y HLA-DR, que se conocen genéricamente como región HLA-D (1,2,11-13). Es poco lo que se conoce de los HLA-DN y DO pero los demás genes y productos han sido estudiados en mayor detalle y sobre ellos se basa la información que se presenta seguidamente. Los antígenos clase II tienen una distribución tisular más limitada pues sólo se expresan en los linfocitos B, los monocitos/macrófagos, las células de la serie dendrítica reticular, los linfocitos T activados y algunas células epiteliales; sin embargo, su expresión puede ser inducida en otros tipos de células por ciertas sustancias como el interferón gama (1,14). Existen al menos tres tipos diferentes de antígenos clase II, codificados por loci separados, HLA-DP, HLA-DQ y HLA-DR. Las moléculas clase II modulan el reconocimiento de los antígenos extraños por parte de los linfocitos CD4+ cuando son presentados a éstos en la membrana de las células presentadoras de antígeno.

## ESTRUCTURA MOLECULAR DE LOS ANTIGENOS CLASE II

Están formados por un dímero compuesto por un polipéptido  $\alpha$  de 34 Kd asociado en forma no covalente con un polipéptido  $\beta$  de 28 Kd (Figura N° 2); ambos están presentes en la membrana celular y poseen un pequeño dominio intracitoplasmático. Normalmente se encuentran las cadenas  $\beta$  asociadas a las  $\alpha$  de la familia correspondiente: DR, DQ y DP. Las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  poseen diferente secuencia de aa pero conservan características estructurales semejantes pues cada una tiene dos dominios de aproximadamente 90 aa, una región intermembrana y otra intracitoplasmática. Los dos pares de dominios

estructurales de las moléculas clase II ( $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2 y  $\beta$ -1,  $\beta$ -2) son homólogos a los cuatro dominios estructurales de las moléculas clase I ( $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2,  $\alpha$ -3 y  $\beta$ 2-m). Las cadenas  $\beta$  de los diferentes haplotipos son codificadas por genes alélicos y son las principales responsables del polimorfismo serológico; las cadenas  $\alpha$  presentan menos variabilidad (1,2,13).

#### LOS GENES DE LA REGION HLA-D (Figura N° 4)

Los HLA-DR están formados por un gen no polimórfico  $\alpha$ , cuyo producto se asocia en la membrana con uno de los genes polimórficos HLA-DR  $\beta$ . La asociación con los alelos  $\beta$ -1 da origen a los antígenos HLA-DR1 al HLA-DRw18. La asociación con los productos  $\beta$ -2 y  $\beta$ -3 origina los antígenos públicos HLA-DRw52 y -DRw53 mientras que el locus  $\beta$ -2 es un seudo gen sin productos conocidos. Los HLA-DQ incluyen cuatro genes: DQ  $\alpha$ -1, DQ  $\beta$ -1, DQ  $\alpha$ -2 y DQ  $\beta$ -2; finalmente, los HLA-DP comprenden los genes para DP  $\alpha$ -1, DP  $\beta$ -1 y los seudo genes DP  $\alpha$ -2 y DP  $\beta$ -2 (11-13).

Figura N° 4

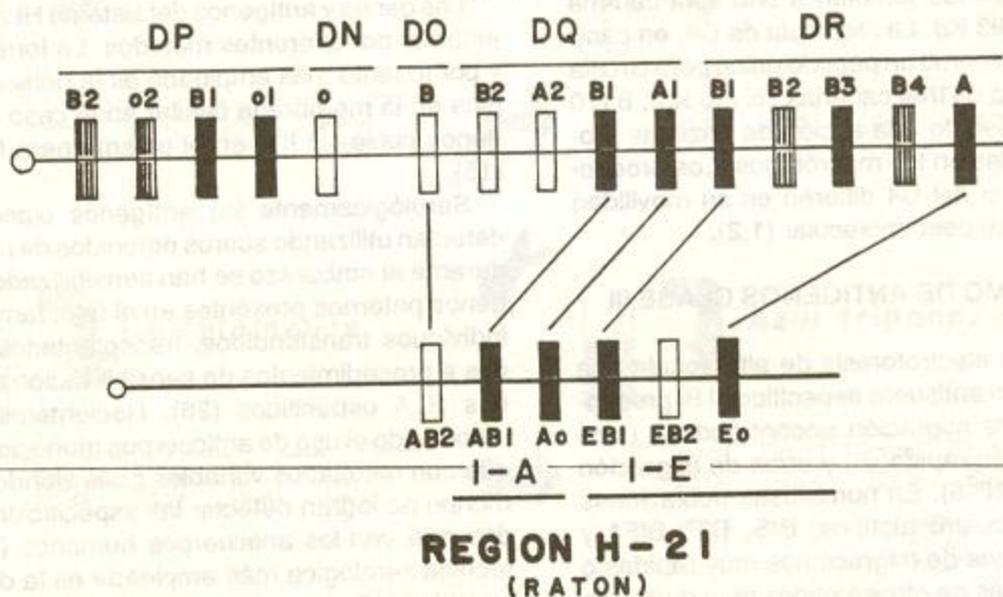
Los productos de los genes HLA-DR y HLA-DQ son identificados generalmente por la reacción de citotoxicidad dependiente de complemento con aloantisueros o anticuerpos monoclonales, con linfocitos B enriquecidos (15,16). Los genes en sí pueden ser identificados, como secuencias únicas de ADN, por análisis de fragmentos de restricción altamente polimórficos (17,18). Los productos de los genes HLA-DP se definen por respuesta de linfocitos T en una prueba de tipificación de linfocitos T sensibilizados, aunque también pueden ser identificados por anticuerpos monoclonales y algunos aloanticuerpos.

#### GENES Y ANTIGENOS CLASE III

Las proteínas C2, C4 y factor B de la properdina (Bf) forman parte de las convertasas del C3, las dos primeras en la vía clásica y la tercera en la vía alterna de activación del complemento (2,19-22). Las tres son sintetizadas por los macrófagos (1).

Como los otros antígenos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad, los de la clase III presentan polimorfismo, detectable mediante electroforesis de

### ORGANIZACION GENES CLASE II REGION HLA-D



alto voltaje seguida de inmunofijación con antisuero específico para C4 y Bf o por isoelectro-enfoque y prueba hemolítica para C2.

Sus genes están localizados entre las regiones de los genes clase I y II. Los del C4 están duplicados con un 99% de homología para los dos loci los cuales se han denominado C4A y C4B. El gen C4A tiene una longitud de 22 Kb mientras que C4B puede tener de 16 a 22 Kb dependiendo de la presencia o ausencia de un intrón en el extremo 5. En esta región se encuentran también genes duplicados no polimórficos para la enzima 21-hidroxilasa.

### FACTOR DE NECROSIS DE TUMORES

Recientemente se ha detectado que los genes correspondientes a las citoquinas *Factores de Necrosis de Tumores* (FNT)  $\alpha$  y  $\beta$  están localizados en la región de los genes clase I del CMH, centroméricos al locus HLA-B (23,24). Este hallazgo es bastante interesante pues se conoce el papel importante que juegan los FNT en la regulación de la expresión de los antígenos clase I en la membrana celular, además de muchos otros efectos en las respuestas inmune e inflamatoria.

### ESTRUCTURA DE LAS MOLECULAS CLASE III

El C2 es una cadena polipeptídica única de 102 Kd. El Bf corresponde también a una sola cadena glicoproteica de 93 Kd. La molécula de C4, en cambio, es sintetizada como un péptido único pero circula como un polímero de tres cadenas:  $\alpha$  (96 Kd),  $\beta$  (70 Kd) y  $\gamma$  (34 Kd) debido a la acción de enzimas proteolíticas presentes en los macrófagos. Los productos de los dos loci del C4 difieren en su movilidad electroforética y su peso molecular (1,2).

### POLIMORFISMO DE ANTIGENOS CLASE III

Después de la electroforesis de alto voltaje y la inmunofijación con antisuero específico el Bf presenta polimorfismo de migración encontrándose unos alelos de migración rápida (F) y otros de migración lenta (S) (Figura N° 5). En numerosas poblaciones se han descrito cuatro alotipos: BfS, BfF, BfF1 y BfS07, estos últimos de migraciones muy rápidas o muy lentas, además de otros alotipos muy raros con frecuencias menores de 1% (25).

El polimorfismo genético del C2 se reconoce por isoelectro-enfoque de muestras de suero en geles de poliacrilamida seguido de placa hemolítica. Esta proteína es la menos polimórfica de los componentes del complemento ligados al CMH. El alotipo más común ha sido llamado C2C pero se han descrito otros como el C2B (básico) y el C2A (ácido). Es frecuente encontrar individuos deficientes en C2 (C2° o alelo nulo) a los cuales no se les observan bandas en la electroforesis. No es posible diferenciar individuos heterocigotos para C2° de individuos homocigotos para C2C o C2B.

Los dos loci C4 también codifican para los grupos sanguíneos Rodgers (Rg<sup>a</sup>) y Chido (Ch<sup>a</sup>) que corresponden a C4A y C4B respectivamente. Su gran polimorfismo se detecta por electroforesis e inmunofijación de muestras de plasma desializadas con neuraminidasa. Se han reportado al menos 13 alelos para C4A y 22 para C4B incluyendo los alelos nulos. La deficiencia de C4 es poco común y se presenta cuando hay alelos silenciosos tanto para C4A (C4AQ0) como para C4B (C4BQ0). La actividad hemolítica de la proteína C4B es mayor que la de C4A. Esta característica se utiliza para diferenciar alelos de ambos genes con igual movilidad electroforética.

### METODOS DE ESTUDIO

Los genes y antígenos del sistema HLA se pueden estudiar por diferentes métodos. La forma más fácil y por lo tanto más empleada es la detección serológica en la membrana celular en el caso de los antígenos clase I y II o en el plasma para los clase III (15).

Serológicamente los antígenos clase I y II se detectan utilizando sueros obtenidos de mujeres que durante el embarazo se han sensibilizado a los antígenos paternos presentes en el feto; también los de individuos transfundidos, transplantados o sometidos a procedimientos de sensibilización con antígenos HLA específicos (26). Recientemente se ha introducido el uso de anticuerpos monoclonales aunque con resultados variables pues siendo de origen murino no logran detectar las especificidades privadas que ven los anticuerpos humanos (16,27). La técnica serológica más empleada es la de linfocitotoxicidad (15), basada en la detección de los antígenos en la membrana de los linfocitos por los

Figura N° 5 Electroforesis e Inmunofijación de BF. Tomado de: Upegui, L.C., Paris, S.C., Caraballo, L.R., García, L.F.

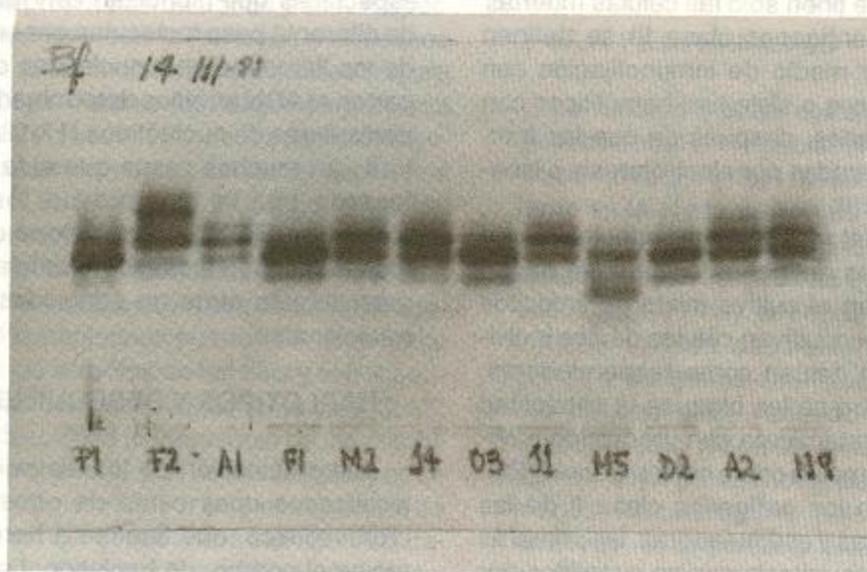
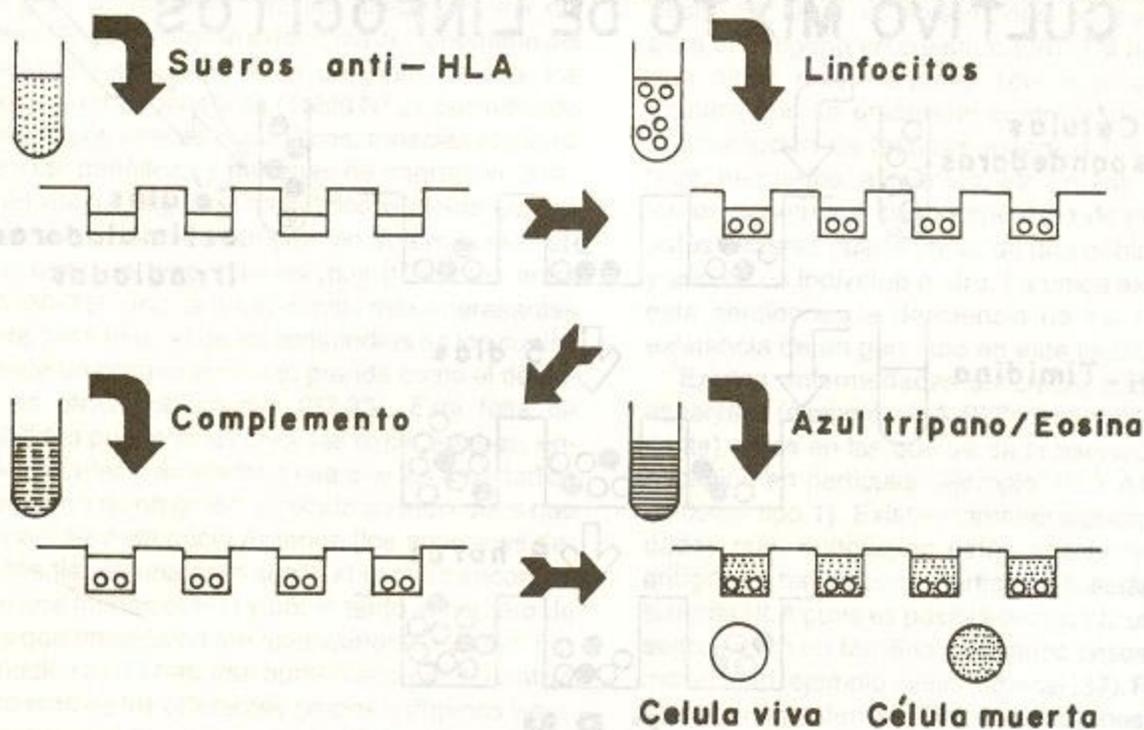


Figura N° 6

## TECNICA DE LA MICROCITOTOXICIDAD



anticuerpos que inducen la activación del sistema complemento (obtenido generalmente de suero de conejo) y visualizada posteriormente por medio de colorantes vitales que tiñen sólo las células muertas (Figura N° 6). Los antígenos clase III se definen serológicamente por medio de inmunofijación con anticuerpos específicos o sistemas hemolíticos con eritrocitos sensibilizados, después de que las fracciones han sido separadas por electroforesis o isoelectro-enfoque (1,2,19).

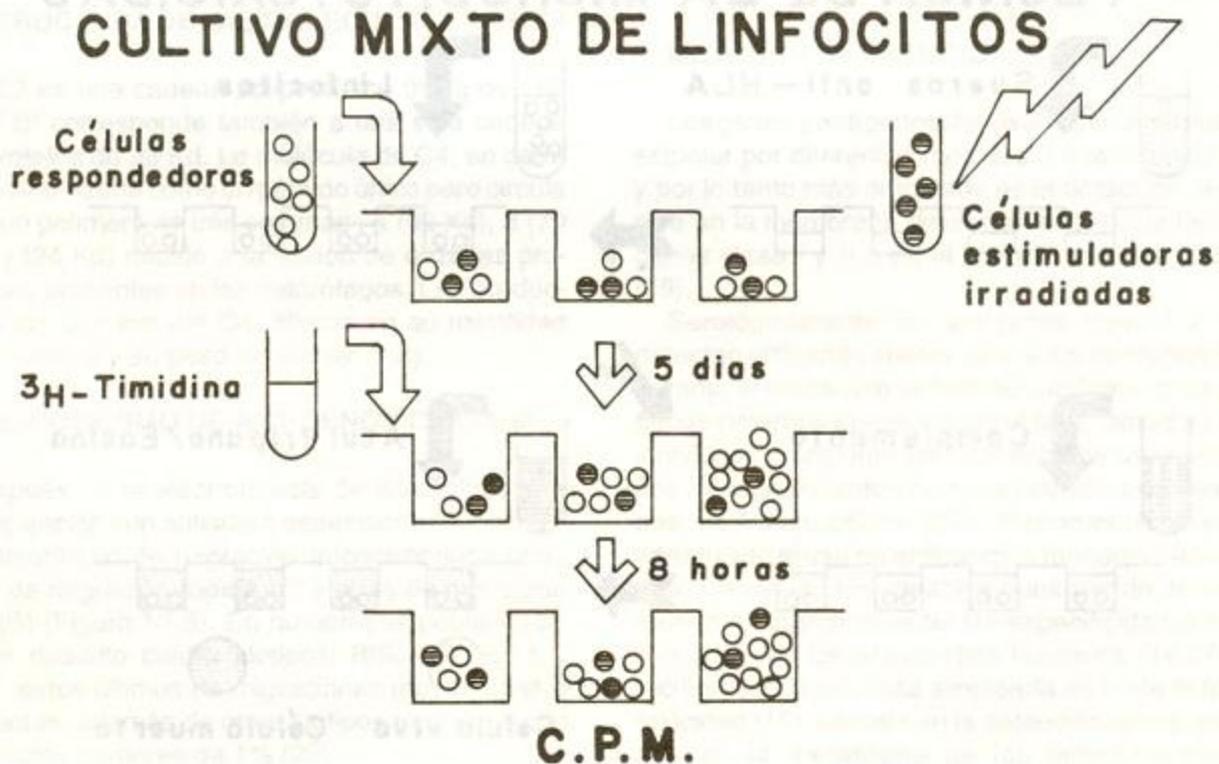
Se han utilizado métodos celulares principalmente para el estudio de los antígenos clase II; se basan fundamentalmente en el cultivo mixto de linfocitos (CML), en el cual se cocultivan células de dos individuos. Unas de ellas actúan como respondedoras, mientras a las del otro se les bloquea la capacidad mitótica, mediante tratamiento con irradiación o Mitomicina C, y se las emplea como estimuladoras (28). Si hay diferencia en los antígenos clase II de las células respondedoras y estimuladoras, las primeras se activan y entran en mitosis que se cuantifica por la incorporación de precursores del ADN como la timidina tritiada (Figura N° 7).

Más recientemente se han introducido métodos de biología molecular que permiten detectar polimorfismos en el ADN mediante la utilización de sondas específicas que hibridizan con fragmentos de ADN de diferente peso molecular, generados por la acción de las llamadas endonucleasas de restricción, que parten el ADN en sitios determinados por secuencias particulares de nucleótidos (17,18,28). Se ha encontrado en muchos casos que este polimorfismo, detectado por la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), correlaciona con los polimorfismos definidos serológica o celularmente pero además detecta otros no conocidos por los métodos tradicionales.

#### HAPLOTIPOS Y DESEQUILIBRIO DE UNION

La combinación de los alelos de diferentes loci, localizados unos cerca de otros en un segmento cromosómico, que tienden a heredarse en bloque, recibe el nombre de haplotipo. La asociación de los haplotipos paterno y materno origina cuatro nuevos genotipos los cuales expresarán dos alelos de cada

Figura N° 7



uno de los loci, uno heredado del padre y otro de la madre; ésto hace que en una familia se espere encontrar hermanos idénticos, haploidénticos y no idénticos en una proporción de 25, 50 y 25% respectivamente, de acuerdo con la herencia mendeliana para caracteres autosómicos codominantes (Figura N° 8). Sin embargo, durante la meiosis se presenta normalmente entrecruzamiento de los dos cromosomas homólogos dando origen a nuevos haplotipos recombinantes (1,2) (Figura N° 9). La combinación resultante de los antígenos expresados representa el fenotipo del individuo. Los diferentes loci que componen el sistema HLA están estrechamente ligados por lo cual los haplotipos pueden ser fácilmente identificados en los estudios de familias y la frecuencia de recombinaciones es relativamente baja (3cM).

A nivel de poblaciones la frecuencia de las combinaciones de alelos no es al azar; ciertos haplotipos se observan en un número mayor que el esperado de acuerdo a la frecuencia de los alelos individuales. Este fenómeno se conoce como desequilibrio de unión y varía de un grupo étnico a otro reflejando las presiones de selección a que ha estado sometido (1,2,30).

## ESTUDIOS DE POBLACION

El gran polimorfismo de los diferentes loci del sistema HLA así como la existencia del fenómeno del desequilibrio de unión le da un gran valor en los estudios antropogénicos (Tabla N° 2), permitiendo definir grupos étnicos específicos, mezclas raciales, distancias genéticas y patrones de migración; existen, en efecto, algunos haplotipos o alelos que se presentan casi exclusivamente en determinadas etnias u otros en proporciones muy diferentes entre razas (30-32). Uno de los ejemplos más interesantes en este sentido es el de los amerindios en los cuales no existe un polimorfismo tan grande como el detectado en otras poblaciones (32,33). Esta falta de variabilidad puede tener diversas explicaciones, entre ellas el *efecto fundador* o sea que los amerindios se derivaron de un grupo reducido de individuos que migraron del Asia hacia América (los antígenos detectados tienen una gran similitud con los encontrados en los mongoloides) y por lo tanto el número de genes que *importaron* fue relativamente escaso. Esta situación pudo haberse aumentado por el relativo aislamiento de los diferentes grupos indígenas y sus costumbres endogámicas, además de la presión de

selección ejercida por diferentes ambientes ecológicos (latitud, altura sobre el nivel del mar, etc) que conlleva la exposición a diferentes enfermedades.

## HLA Y ENFERMEDAD

La función básica del sistema HLA de regular genéticamente el funcionamiento del sistema inmune mediante los mecanismos de restricción, tanto en la presentación de los antígenos como en su reconocimiento por parte de los linfocitos T citotóxicos efectores, permite suponer que en muchos casos en que hay anomalías de la respuesta inmune existen asociaciones con determinados genes o antígenos de histocompatibilidad. El estudio de una gran variedad de enfermedades ha validado esta hipótesis especialmente en entidades en cuya patogénesis están involucrados fenómenos inmunológicos (34,35) (Tabla N° 3); sin embargo, es importante recalcar que estas asociaciones no son totales pues si bien se puede demostrar que hay un aumento, o disminución, estadísticamente significativos de pacientes con una enfermedad determinada que expresan un antígeno en particular, siempre habrá individuos sanos que también lo expresan y pacientes que a pesar de tener la enfermedad no son positivos para el antígeno en cuestión (36). Tal hecho indica que estas enfermedades son multicausales, de manera que se presentan como producto final de la interacción de factores externos (microorganismos, alérgenos, alimentos, etc.) e internos (uno o varios genes) y el peso específico de cada uno de estos factores puede variar de una población a otra y aún de un individuo a otro. La única excepción en este sentido es la deficiencia de C2 debida a la existencia de un gen nulo en este locus.

Existen enfermedades asociadas a un antígeno específico (ejemplo: HLA-B27 y espondilitis anquilosante); otras en las que se da la asociación con un haplotipo en particular (ejemplo: HLA A1,B8,DR3 y diabetes tipo 1). Existen también algunas enfermedades que, aunque no están asociadas a ningún antígeno o haplotipo en particular, si están ligadas al sistema HLA pues es posible demostrar un patrón de segregación en familias con varios casos de la misma entidad (ejemplo: rinitis alérgica) (37). Finalmente, hay algunas enfermedades de patogénesis no inmunológica asociadas o ligadas al HLA como la hemo-

Figura Nº 8

### DISTRIBUCION DE HAPLOTIPOS

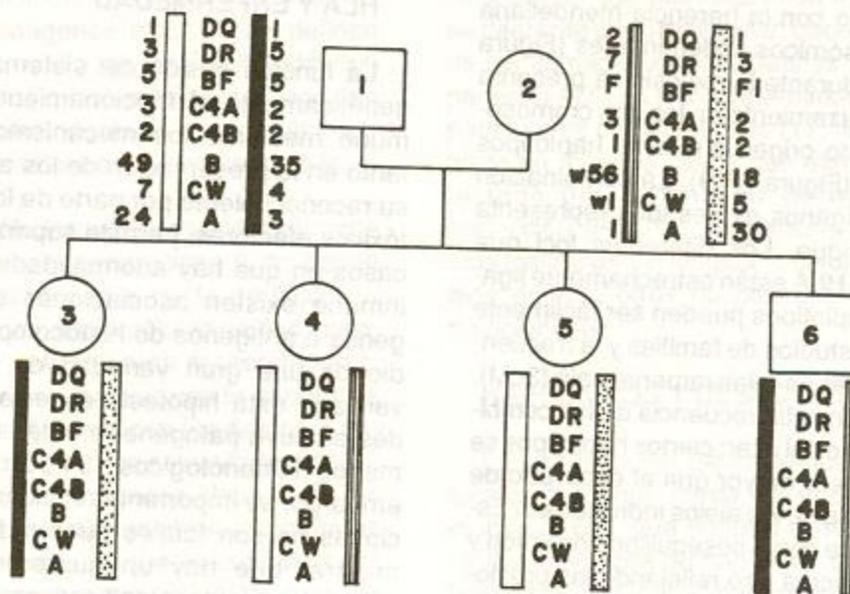
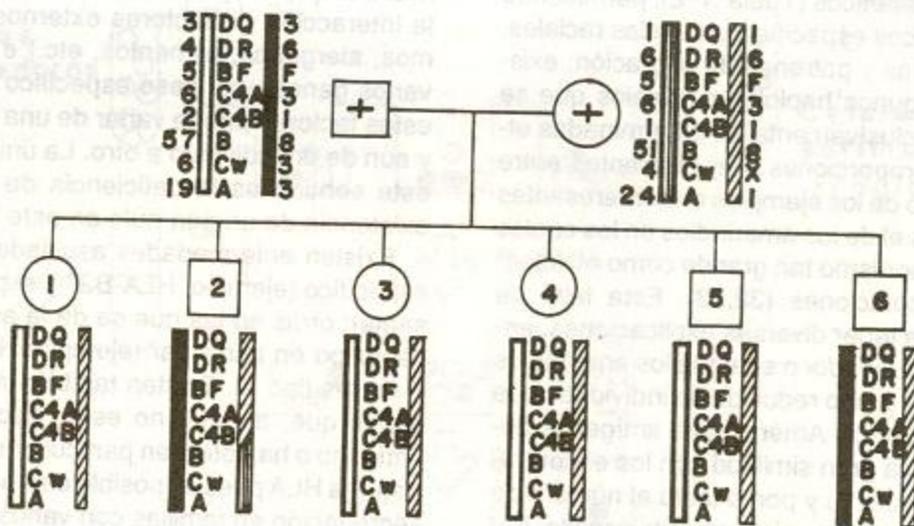


Figura Nº 9

### HAPLOTIPO RECOMBINANTE



Ref. Upegui, L.C. Paris, S.C. Garcia, L.F. (En preparación)

**TABLA N° 2**  
**FRECUENCIAS GENICAS PARA LOS LOCI HLA-A, -B, -C, Y -DR**  
**EN POBLACION GENERAL DE MEDELLIN, COLOMBIA\***

HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DR
A1=0.061	B5=0.008	Cw1=0.093	DR1=0.043
A2=0.198	B51=0.029	Cw2=0.025	DR1=0.142
A3=0.070	Bw52=0.034	Cw3=0.103	DR3=0.157
A9=0.004	B7=0.052	Cw4=0.122	DR4=0.112
A23**=0	B8=0.017	Cw5=0.004	DR5=0.043
A24=0.210	B12=0.008	Cw6=0.017	DRw6=0.070
A10=0.004	B44=0.066	Cw7=0.152	DR7=0.066
A25=0.012	B45=0.008	Cw8=0.038	DRw8=0.004
A26=0.025	B13=0.017	X=0.755	DRw10=0.004
Aw34=0.004	B14=0.079		X=0.527
Aw66=0.004	Bw64=0.029		
A11=0.066	Bw65=0.034		
Aw19=0.066	B15		
A29=0.008	Bw62=0.017		
A30=0.017	Bw63=0.004		
A31=0.012	B16		
A32=0.008	B38=0.012		
Aw33=0.008	B39=0.012		
Aw36=0.004	B17		
X=0.177	Bw57=0.004		
	Bw58=0.004		
	B18=0.021		
	B21		
	B49=0.025		
	Bw50=0.004		
	Bw22		
	Bw55=0.021		
	Bw56=0.004		
	B27=0.004		
	B35=0.017		
	B37=0.004		
	B40=0.004		
	Bw60=0.017		
	Bw61=0.012		
	X=0.289		

\* Basados en el estudio de 117 individuos no relacionados incluidos en el 3° y 4° Talleres Latinoamericanos de Histocompatibilidad.

\*\* Cuando no fue posible diferenciar las divisiones, se incluyen los antígenos públicos.

cromatosis hereditaria, la narcolepsia familiar y la hiperplasia adrenal congénita debida a la deficiencia de 21-hidroxilasa cuyos genes están localizados en la región III (2).

Hay múltiples mecanismos por los cuales el complejo mayor de histocompatibilidad puede asociarse con la susceptibilidad o resistencia a enfermedades. La mayoría de las asociaciones se dan con antígenos clase II que, como se sabe, regulan la presentación de antígenos por parte de las células presentadoras a los linfocitos T CD4+ mediante una unión física demostrable entre un determinado antígeno clase II (histotopo) y un epítipo específico del antígeno extraño que comparte determinadas secuencias de aminoácidos con el primero, formando un complejo histotopo-epítipo que va a ser finalmente reconocido por el receptor del linfocito T para el antígeno. La existencia de asociaciones no permisivas entre histotopos y epítipos, así como de *huecos* en el repertorio del receptor del linfocito T pueden llevar a reacciones inmunes anómalas responsables de la aparición de enfermedades (39,40). Otra posibilidad interesante es la existencia de *reacciones cruzadas* entre antígenos microbianos y tisulares, de tal manera que la exposición a los primeros puede inducir una respuesta inmune que luego ataca los tejidos propios que expresen el mismo antígeno. Este mecanismo parece estar ocurriendo en la artritis reumatoidea en que los proteoglicanos del cartilago articular expresan *proteínas de shock térmico* presentes en un gran número de microorganismos (40,41). Otra posibilidad es que productos microbianos se unan a determinados antígenos de histocompatibilidad, los modifiquen y el sistema inmune inicie una respuesta contra ellos, como parece ocurrir con una proteína producida por algunos serotipos de *Klebsiella* que se une específicamente al antígeno HLA-B27 (42). Finalmente, vale la pena mencionar una hipótesis muy atractiva, derivada del estudio de ratones transgénicos con genes H-2 clase I, según la cual la sobreexpresión de antígenos de histocompatibilidad particulares en una determinada célula (inclusive intracelularmente) podría inducir la unión de una determinada molécula a estos antígenos y alterar el metabolismo celular; como ocurrió con la insulina que se unió a los antígenos H-2 de los ratones transgénicos que los expresaron en exceso en las células  $\beta$  del páncreas y posteriormente desarrollaron diabetes.

## HLA Y TRANSPLANTES

Una de las áreas en que el estudio de los antígenos de histocompatibilidad ha tenido un mayor impacto ha sido la de los trasplantes de órganos (44-46). El nombre mismo de histocompatibilidad se deriva del hecho de que una de las primeras formas de detectarlos fue mediante el rechazo de injertos de piel entre animales de experimentación de diferentes orígenes genéticos.

El desarrollo de los trasplantes en el ser humano como una forma de tratamiento para los estadios terminales de función de un órgano o tejido ha sido facilitado por, y a su vez ha impulsado, el avance en el conocimiento de este sistema genético. El descubrimiento de que injertos realizados entre animales con idénticos antígenos de histocompatibilidad tienen una sobrevida mucho mayor que cuando presentan disparidades a este nivel, llevó a su aplicación clínica. En el caso de los trasplantes de riñón, corazón y médula ósea humanos es claro que una mejor compatibilidad HLA entre el receptor y el injerto correlaciona con una mayor sobrevida de éste (Figura N<sup>o</sup> 10). Igualmente, pacientes que por diversos motivos (transfusiones, embarazos o trasplantes previos) presentan anticuerpos contra los antígenos de histocompatibilidad del donador, desarrollan rechazos hiperagudos que en la gran mayoría de los casos destruyen el trasplante. Finalmente, los linfocitos que infiltran un injerto en proceso de rechazo reconocen en forma específica *in vitro* los antígenos HLA del injerto (46). Por estas razones la selección del donador adecuado en un trasplante se basa en el estudio de la presencia de anticuerpos en el suero del receptor contra los HLA del donador y en la identificación de los antígenos HLA de los receptores y los donadores para seleccionar las parejas donador-receptor más compatibles. Igualmente, el hecho de que la historia natural de un injerto sea su rechazo, implica la utilización de drogas inmunosupresoras para disminuir la capacidad del receptor de montar una respuesta inmune efectiva contra los antígenos de histocompatibilidad presentes en el injerto.

## HLA Y EMBARAZO

Debido a que en los mamíferos el embarazo es en todos los sentidos un trasplante haploideéntico, pues

**TABLA Nº 3**

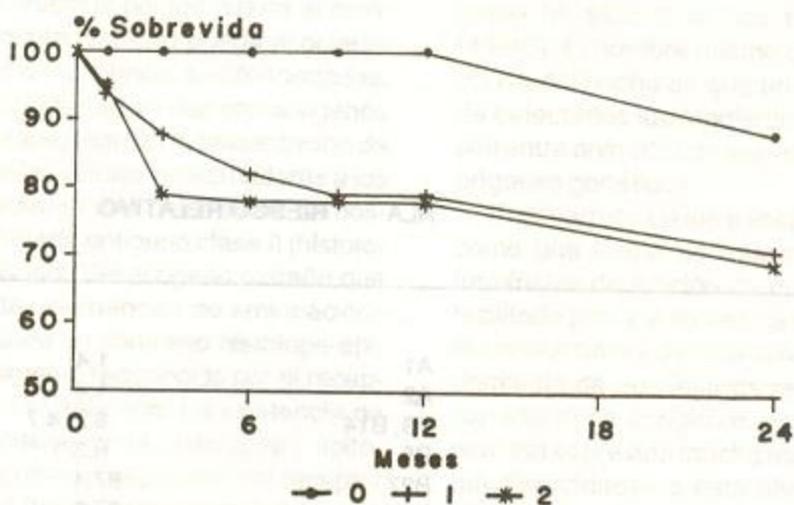
**ASOCIACION DEL SISTEMA HLA CON ALGUNAS ENFERMEDADES**

ENFERMEDAD	HLA	RIESGO RELATIVO
Enfermedad de Hodgkin	A1	1.4
Leucemia linfoide aguda	A2	1.4
Hemocromatosis idiopática	A3, B14	8.2, 4.7
Enfermedad de Behçet	B5	6.3
Espondilitis anquilosante	B27	87.4
Enfermedad de Reiter	B27	37.0
Uveítis anterior aguda	B27	10.4
Tiroiditis subaguda	B35	13.7
Psoriasis vulgar	Cw6	13.3
Dermatitis herpetiforme	DR3	15.4
Enfermedad celíaca	DR3	10.8
Deficiencia IgA (donadores sangre)	DR3	5.0
Síndrome de Sicca	DR3	9.7
Enfermedad de Adisson idiopática	DR3	6.3
Enfermedad de Graves	DR3	3.7
Diabetes tipo 1	DR3, DR4	7.9
Miastenia gravis	DR2	0.2
L.E.S.	DR3	2.5
Nefropatía membranosa idiopática	DR3	5.8
Esclerosis múltiple	DR3	12.0
Síndrome de Goodpasture	DR2	4.1
Artritis reumatoidea	DR2	15.9
Pénfigo vulgar	DR2	4.7
Nefropatía IgA	DR4	14.4
L.E.S. inducido por hidralazina	DR4	4.0
Tiroiditis postparto	DR4	5.6
Tiroiditis de Hashimoto	DR4	5.3
Anemia perniciosa	DR5	3.2
Artritis reumatoidea juvenil	DR5	5.4
Glomerulonefritis primaria	DR5, DRw8	3.6, 3.2
	C4B 2.9	22.0

Modificado de referencia Nº 53

Figura N° 10

### INJERTO RENAL CADAVER CON CICLOSPORINA EFECTO INCOMPATIBILIDAD HLA-DR



U.de.A./HUSVP Medellín 12/31/88

sólo comparte con la madre la mitad de los genes, se considera que el estudio de los mecanismos que permiten que el feto permanezca en la cavidad uterina sin ser rechazado puede ser de gran interés para el conocimiento de la fisiología y la patología del embarazo y de los mecanismos de tolerancia e inmunidad en general. Se sabe que el feto produce algunas sustancias como la  $\alpha$ -feto proteína que disminuyen la respuesta inmune de la madre e inhiben la expresión de los antígenos clase II fetales (47). Los tejidos placentarios, específicamente el trofoblasto, expresan antígenos clase I en concentraciones mucho más bajas que el resto de los tejidos. Estos y otros fenómenos protegerían al feto de un rechazo similar al que ocurre en otros tipos de injertos.

Sin embargo, parece que la situación es mucho más compleja, pues se ha reportado que un porcentaje significativamente alto de fetos abortados espontáneamente son homocigotes para diferentes loci HLA (48), lo cual coincide con la observación de que mujeres con aborto espontáneo recurrente comparten con sus cónyuges más antígenos de histocompatibilidad que aquéllas sin historia de abortos repetidos (49). Estas observaciones clínicas parecen tener una correlación con las preferencias de apareamiento observadas en ratones con diferentes H-2;

en efecto: parejas de animales de una misma cepa no se aparean con la misma frecuencia que parejas de cepas con H-2 diferentes (50). Estos datos sugieren que además de la influencia que el complejo mayor de histocompatibilidad pudiera tener en los fenómenos inmunológicos que se presentan durante el embarazo, deben existir otros mecanismos no inmunológicos en los cuales este complejo también ejerce su influencia en la reproducción, posiblemente para favorecer la heterocis y disminuir la frecuencia de homocigotes en la población.

#### HLA Y PATERNIDAD

El gran polimorfismo genético de los antígenos HLA, así como su distribución desigual entre diferentes poblaciones lo ha hecho una de las herramientas más valiosas y utilizadas para los estudios de paternidad (51). Mientras el estudio combinado de cerca de 10 antígenos eritrocitarios mayores y menores más un número igual de isoenzimas de diferente origen da una probabilidad *a priori* de cerca del 96%, el estudio del HLA brinda por sí solo una probabilidad igual y su combinación con los grupos sanguíneos mayores y unos pocos menores logra entre 98 y 99% (52). De tal manera que el estudio de los antígenos

HLA en la madre, el hijo y el presunto padre biológico, en la gran mayoría de los casos, en una población en que se conocen las frecuencias génicas, es absolutamente seguro para descartar una paternidad y proporciona una gran certeza en su afirmación; por ello se acepta para dirimir estos casos en la legislación de muchos países.

## CONCLUSIONES

El estudio del sistema HLA tiene una gran importancia en genética como un modelo de genes altamente polimórficos, sujetos a grandes presiones de selección debido al papel fundamental que cumplen en la preservación de la especie. En la inmunología su estudio ha sido, y continúa siendo, una de las áreas de investigación más productivas para la comprensión de los complejos fenómenos que regulan el reconocimiento de lo propio y lo no propio y controlan la respuesta inmune. Sin embargo, además de la importancia teórica del estudio del complejo mayor de histocompatibilidad, su aplicación al conocimiento de los mecanismos genéticos de resistencia o susceptibilidad a un gran número de enfermedades y su importancia en la selección de donadores y receptores en los trasplantes de órganos, al actuar como blancos de las reacciones de rechazo, hacen que el sistema HLA haya adquirido una gran importancia en la biomedicina actual y que continúe siendo un campo de gran interés teórico y práctico.

## SUMMARY

The human major histocompatibility complex or HLA system, located in the short arm of chromosome 6, is the most important genetic system in the regulation of the immune response. The HLA genes code for 3 types of antigens which can be differentiated by their molecular structure, tissue distribution and function. Class I antigens (HLA-A, B, C and E) are composed by a heavy  $\alpha$  chain bound to  $\beta$ 2-microglobulin and are expressed by most nucleated cells. These molecules are the restriction elements for CD8+ T lymphocyte activation. Class II antigens (HLA-DP, DQ and DR) are dimers formed by  $\alpha$  and  $\beta$  chains. These an-

tigens are present in the membrane of a limited type of cells and are responsible for the genetic restriction in the antigen presentation to CD4+ lymphocytes. Class III antigens are plasma proteins of the complement system (C2, C4 and BF).

The HLA loci are highly polymorphic and their products are inherited in blocks known as haplotypes. The HLA system is very useful in anthropogenetic studies since the frequency of the alleles and haplotypes vary among the various ethnic groups. Some HLA antigens are present in patients with certain diseases in proportions significantly different to those found in the general population. These findings have been very important to understand the pathogenesis and the genetic resistance or susceptibility to such diseases. In tissue transplantation the HLA compatibility between donor and recipient correlates with graft survival. The HLA system also seems to play a very important role in the immunological phenomena that occur during pregnancy.

Due to the theoretical and practical importance of the HLA system in genetics, immunology and medicine, its study will continue to be a very active field for basic and clinical research.

---

## BIBLIOGRAFIA

1. KLEIN J. Natural History of the Major Histocompatibility Complex. 1a. ed. New York: Wiley, 1986: 775.
2. DAUSSET J, PLA M. HLA: Complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme. 2a. ed. Paris: Flammarion, 1985: 414.
3. BODMER WF. HLA structure and function: a contemporary view. *Tissue Antigens* 1981; 17: 9-20.
4. BODMER WF. HLA today. 1986. *Human Immunol* 1986; 17: 490-503.
5. COMMITTEE ON LEUKOCYTE ANTIGENS (WHO-IUIS). Nomenclature for factors of the HLA system, 1987. *Biotest Bull* 1989; 4: 53-60.
6. HURD CM. A review of some aspects of the molecular biology of the human major histocompatibility complex (MHC). *Biotest Bull* 1989; 4: 35-52.
7. KOLLER BH, GERAGHTY DE, SHIMIZU Y, DeMARS R, ORR HT. HLA-E. A novel HLA class I gene expressed in resting T lymphocytes. *J Immunol* 1988; 141: 897-904.
8. BJORKMAN PJ, SAPER MA, SAMRAOUI B, BENNET WS, STROMINGER JL, et al. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 1987; 329: 506-518.

9. LOPEZ DE CASTRO JA. HLA-B27 and HLA-A2 subtypes: structure, evolution and function. *Immunol Today* 1989; 10: 239-246.
10. CEPPELLINI R, GAROTTA G, MALAVASI F, TRUCCO M. Modulation of expression of HLA components at the cell surface induced by anti- $\beta$ 2m reagents. *Tissue Antigens* 1981; 17: 28-36.
11. MACH B, GORSKI J, ROLLINI P, BERTE C, AMALDI I, et al. Polymorphism and regulation of HLA class II genes of the major histocompatibility complex. *Cold Spr Harb Symp Quant Biol* 1986; 51: 67-74.
12. BELL JI, DENNEY D, FOSTER L, LEE BSM, HARDY D, et al. Molecular biology of the class II region of the human major histocompatibility complex. *Cold Spr Harb Symp Quant Biol* 1986; 51: 75-82.
13. KAPPEL D, STROMINGER JL. Human class II major histocompatibility complex genes and proteins. *Ann Rev Biochem* 1988; 57: 991-1028.
14. GUY K, VAN HEYNINGEN V, COHEN BB, DEANE DL, STEEL CM. Differential expression and serologically distinct subpopulations of human Ia antigens detected with monoclonal antibodies to Ia alpha and beta chains. *Eur J Immunol* 1982; 12: 942-948.
15. FERRONE S, INDIVERI F, PELLEGRINO MA. The lymphomicrocytotoxicity test for HLA-A,B,C and HLA-DR typing. En: *Immunoassays: Clinical Laboratory Techniques for the 1980s*. New York: Allan R Liss, 1980: 255-285.
16. PISTILLO MP, MAZZOLENI O, TANIGAKI N, HAMMERLING U, LONGO A, et al. Human anti-HLA monoclonal antibodies: production, characterization and application: a review. *Human Immunol* 1988; 21: 265-277.
17. SARJEANTSON SW, KOHONEN-CORISH MRJ, DUNCKLEY H, REID MA. HLA class II RFLPs are haplotype-specific. *Cold Spr Harb Symp Quant Biol* 1986; 51: 83-89.
18. BIDWELL J. DNA-RFLP analysis and genotyping of HLA-DR and DQ antigens. *Immunol Today* 1988; 9: 18-23.
19. RAUM DD, AWDEH ZL, GLASS D, YUNIS E, ALPER CA. The location of C2, C4, and BF relative to HLA-B and HLA-D. *Immunogenetics* 1981; 12: 473-483.
20. CARROLL MC, CAMPBELL RD, BENTLEY DR, PORTER RR. A molecular map of the human major histocompatibility complex class III region linking complement genes C4, C2 and factor B. *Nature* 1984; 307: 237-241.
21. YU CY, CAMPBELL RD. Definitive RFLPs to distinguish between the human complement C4A/C4B isotypes and the major Rodgers/Chido determinants: application to the study of C4 null alleles. *Immunogenetics* 1987; 25: 383-390.
22. YU CY, CAMPBELL RD, PORTER RR. A structural model for the location of the Rodgers and the Chido antigenic determinants and their correlation with the human complement component C4A/C4b isotypes. *Immunogenetics* 1988; 27: 399-405.
23. STROMINGER JL. Human major histocompatibility complex genes: Class I antigens and tumor necrosis factors. *Cold Spr Harb Symp Quant Biol* 1986; 51: 63-66.
24. SPIES T, BLANCK G, BRESNEHAN M, SANDS J, STROMINGER JL. A new cluster of genes within the human major histocompatibility complex. *Science* 1989; 243: 214-217.
25. BERNAL JE, PAPIHA SS, KEYEUX G, LANCHBURY JS, MAUFF G. Complement polymorphism in Colombia. *Ann Hum Biol* 1985; 12: 261-265.
26. ZACHARY EA, MURPHY NB, SMERGLIA AR, BRAUN WE. Screening for HLA antibodies. En: ROSE NR, FRIEDMAN H, FAHEY JL. Manual of clinical laboratory immunology. 3a. ed. Washington: Am Soc Microbiol, 1986: 824-834.
27. PARHAM P, ANDROLEWICZ MJ, BRODSKY FM, HOLMES NJ, WAYS JP. Monoclonal antibodies: purification, fragmentation and application to structural and functional studies of class I MHC antigens. *J Immunol Meth* 1982; 53: 133-173.
28. DUBEY DP, YUNIS I, YUNIS EJ. Cellular typing: mixed lymphocyte response and cell mediated lympholysis. En: ROSE NR, FRIEDMAN H, FAHEY JL. Manual of clinical laboratory immunology. 3a. ed. Washington: Am Soc Microbiol, 1986: 847-858.
29. LE GALL I, CHAUSSE AM, MARCADET A, MILLASSEAU P, BEAUD'HUY-LANCELIN D, et al. New methods for detection of HLA genes polymorphism useful for associated diseases studies. *Path Biol* 1986; 34: 801-807.
30. BAUER MP, NEUGEBAUER M, DEPPE H, SIGMUND M, LUTON T, et al. Population analysis on the basis of deduced haplotypes from random families. En: ALBERT ED (Ed). *Histocompatibility testing 1984*. Berlin: Springer-Verlag, 1984: 333-341.
31. PIAZZA A, MENOZZI P, CAVALLI-SFORZA LL. The HLA-A, B gene frequencies in the world: migration or selection?. *Human Immunol* 1980; 4: 297-304.
32. CAVALLI-SFORZA LL, BODMER WF. Genética de las poblaciones humanas. Barcelona: Omega; 1981: 942.
33. BLACK FL. Interrelationships between Amerindian tribes of lower amazonia as manifested by HLA haplotype disequilibrium. *Am J Hum Genet* 1984; 36: 1318-1331.
34. RYDER LP, SVEJGAARD A. Genetics of HLA disease association. *Ann Rev Genet* 1981; 15: 168-187.
35. POLLACK MS, RICH RR. The HLA complex and the pathogenesis of infectious diseases. *J Infect Dis* 1985; 151: 1-8.
36. BUSSON M, PREVOST P. Méthodes statistiques usuelles pour l'étude des associations et des liaisons HLA-maladies. *Path Biol* 1986; 34: 711-714.
37. DeWOLF WC, DUPONT B, YUNIS EJ. HLA and disease: current concepts. *Human Pathol* 1980; 11: 332-337.
38. MARRACK P, KAPPLER J. The T-cell repertoire for antigen and MHC. *Immunol Today* 1988; 9: 308-315.
39. NAGY ZA, LEHMANN PV, FALCIONI F, MULLER S, ADORINI L. Why peptides? Their possible role in the evolution of MHC-restricted T-cell recognition. *Immunol Today* 1989; 10: 132-138.
40. TODD JA, ACHA-ORBEA H, BELL JI, CHAP N, FRONEK Z, et al. A molecular basis for MHC class II-associated autoimmunity. *Science* 1988; 240: 1003-1009.
41. VAN EDEN W, THOLE JE, VAN DER ZEE JE, NOORDZIJ A. Mycobacterial epitope recognized by T lymphocytes in adjuvant arthritis. *Nature* 1988; 334: 171-173.
42. SHINNICK TM, VODKIN MH, WILLIAMS J. The Mycobacterium tuberculosis 65-kilodalton antigen is a heat shock protein which corresponds to common antigen and to the *Escherichia coli* Gro-El protein. *Infect Immun* 1988; 56: 446-451.
43. ALLISON J, CAMPBELL IL, MORAHAN G, MANDEL TE, HARRISON LC, et al. Diabetes in transgenic mice resulting from over-expression of class I histocompatibility molecules in pancreatic  $\beta$  cells. *Nature* 1988; 333: 529-533.
44. MORRIS PJ. Kidney transplantation. Principles and practice. 2a. ed. London: Grune & Stratton; 1984: 581.
45. GARCIA LF, ARANGO AM, HENAO JE, ARBELAEZ M. Blood transfusions and HLA compatibility in first cadaveric kidney transplants treated with cyclosporine A. *Transpl Proc* 1988; 20: 715-719.

46. MICI JI MC, BARRY TS, FINN OJ. Human allograft-derived T-cell line: donor class I- and class II-directed cytotoxicity and repertoire stability in sequential biopses. *Human Immunol* 1988; 22: 185-198.

47. JOHNSON PM. Cells and antigens at the maternal-fetal interface. *Immunol Today* 1985; 6: 143-144.

48. UNDERWOOD JL, MOWBRAY JF. Treatment of recurrent spontaneous abortion. *Clin Immunol Allergy* 1985; 6: 33-42.

49. OBER C, SIMPSON JL, WARD M, RAVADNY RM, ANDERSEN R, et al. Prenatal effects of maternal-fetal HLA compatibility. *Am J Reproduct Immunol* 1987; 15: 141-149.

50. BOYSE EA, BEAUCHAMP GK, YAMAZAKI K. The sensory perception of genotypic polymorphism of the major histocom-

patibility complex and other genes: some physiological and phylogenetic implications. *Human Immunol* 1983; 6: 177-183.

51. SIGNALET J, BIZOT M, SOUSTELLE B, FOURCADE J. Intérêt des groupages HLA dans les problèmes de paternité discutée. *J Génét Hum* 1983; 3: 183-199.

52. BIAS WB, ZACHARY AA. Basic principles of paternity determination. En: ROSE NR, FRIEDMAN H, FAHEY JL. Manual of clinical laboratory immunology. 3a. ed. Washington: Am Soc Microbiol, 1986: 902-911.

53. SVEJGAARD A. HLA and disease. En: ROSE NR, FRIEDMAN H, FAHEY JL. Manual of clinical laboratory immunology. 3a. ed. Washington: Am Soc Microbiol, 1986: 912-920.