

# La inmunogenética en medicina clínica

## Parte II. Bases de la inmunogenética actual y su aplicabilidad en la clínica

A. Iglesias, E. Egea, G. de Egea, M. Salazar, J. Yunis,  
S. Lechin, I. Yunis, E. J. Yunis

El sistema inmunitario participa de manera importante en el mantenimiento de la salud en general. Para ello se requiere la regulación de una intrincada red de refinados mecanismos que permiten el reconocimiento, procesamiento, amplificación y supresión de la respuesta inmune. Los mecanismos moleculares encargados de dicha regulación son de naturaleza genética y están codificados por genes que se encuentran localizados dentro de un sistema denominado Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Este sistema controla las diferentes interacciones moleculares y celulares responsables de la expresión de la respuesta inmunitaria. En el ratón esta respuesta se encuentra codificada en la región H-2 del cromosoma 17 (1, 2), y en el humano en una región análoga denominada HLA, acrónimo de Human Leukocyte Antigen System, localizada en el brazo corto del cromosoma 6 (3,4, 5).

La investigación sobre los genes localizados en el CMH reviste capital importancia por múltiples razones: 1. Estos genes participan en el reconocimiento de los antígenos extraños; reconocimiento de carácter restringido o controlado mediante la

red de idiotipos-antiidiotipos y mediado celularmente por los linfocitos B y por la interacción antígeno-macrófago-receptor de la célula T (1,6-11). El término restricción controlada se refiere al papel importante de los productos del CMH en el reconocimiento antigénico, la producción de anticuerpos, la proliferación linfocitaria y la función efectora (3, 12-14). La restricción controlada es muy importante durante el proceso ontogénico, pues capacita al individuo para responder en forma adecuada contra diferentes antígenos extraños, y al mismo tiempo no responder ante los antígenos propios (tolerancia inmunológica).

2. Los genes de la región del HLA codifican la síntesis de glicoproteínas que participan en los mecanismos de regulación de la respuesta inmunitaria como producción de anticuerpos, biosíntesis de diversos componentes del complemento, producción de receptores de membrana para las diferentes subpoblaciones de linfocitos (T citotóxicos, T supresores y T cooperadores) (1, 6-11, 14-16).

3. El CMH interviene en el control de la embriogénesis.

4. Los genes del CMH participan en el control inmuno-endocrino, especialmente de la citocromo p450 adrenal, en la síntesis de la 21-hidroxilasa (21-OH $\alpha$  y 21-OH $\beta$ ) y en la regulación de la síntesis de ciertas hormonas esteroideas (17,18).

5. El análisis de las características genéticas, de los patrones de la herencia y del papel biológico de los genes y de los productos del CMH tiene gran importancia en la medicina clínica, especialmente en el campo de los trasplantes de órganos y en la reacción de injerto vs. huésped (3,4, 19).

Drs. Antonio Iglesias, Eduardo Egea Bermejo, Gloria de Egea : Division of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Department of Pathology Harvard Medical School; Facultad de Medicina Universidad del Norte, U. Libre, Barranquilla, Colombia; Dra. Marcela Salazar Vallejo: Department of Pathology Harvard Medical School; Drs. Juan Yunis, Iván Yunis: Division of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Department of Pathology Harvard Medical School; Dr. Scarlet Lechin: Division of Immunogenetics Dana Farber Cancer Institute, Boston, Department of Pathology Harvard Medical School, Sección de Psicofarmacología y Medicina Psicosomática, Instituto Medicina Experimental, Universidad Central de Venezuela, Caracas; Dr. Edmond J. Yunis: Division of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Department of Pathology Harvard Medical School, Chief Division of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Professor of Pathology, Harvard Medical School.

Solicitud de separatas al Dr. Iglesias.

6. Existe asociación entre ciertos antígenos de clase II y algunas enfermedades, como se observa a menudo en diferentes grupos étnicos; además hay evidencia de que los genes de clase II tienen que ver con la susceptibilidad a enfermedad generalmente en concordancia con algunos factores ambientales (3,4, 19).

7. El polimorfismo en la secuencia de nucleótidos de los genes que codifican los productos de los antígenos clase II en el CMH, no sólo determina la especificidad de la respuesta inmune sino también la susceptibilidad de algunos isotipos del CMH a desarrollar enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoidea, la diabetes insulino-dependiente y el pénfigo vulgar (3,4,19).

8. Los antígenos de clase I regulan en forma temprana la activación de los linfocitos T, posiblemente estimulando una vía calciodependiente, e independientemente del estímulo de la proteína quinasa C (3,4,19).

**Sinopsis del Complejo Mayor de Histocompatibilidad**

La regulación del sistema inmunitario está dada, al menos en parte, por moléculas codificadas por genes denominados genes Ir, algunos de los cuales se encuentran ubicados en el complejo genético denominado CMH (Figura 1). En el humano éstos están localizados en el brazo corto del cro-

mosoma 6 y se les denomina sistema HLA. El mismo sistema genético en los murinos se encuentra localizado en el cromosoma 17 y se denomina complejo H- 2.

Estos genes controlan la respuesta inmunitaria a tres niveles:

1. Durante la presentación del antígeno por el macrófago.
2. En la interacción celular que lleva a la producción de anticuerpos.
3. En la producción de mediadores solubles con función supresora o cooperativa.

El sistema HLA representa 1/1000 del total del genoma humano. Los isotipos A, B y C codifican los antígenos de clase I, los cuales se expresan en la superficie de las células nucleadas y las plaquetas. Los isotipos de la región D codifican la síntesis de los determinantes antigénicos de la clase II, los cuales se expresan en la superficie celular de los linfocitos B, los monocitos y las células progenitoras de la médula ósea, así como en los linfocitos T activados (4).

La región HLA contiene otros grupos moleculares constituidos por genes estructurales que codifican los componentes del complemento C2, Bf, C4A, y C4B (3,4), la enzima 21-Hidroxilasa (20) y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  y  $\beta$  o linfoxina (21). Todos estos productos reciben, en conjunto, el nombre de antígenos clase III. Estudios recien-

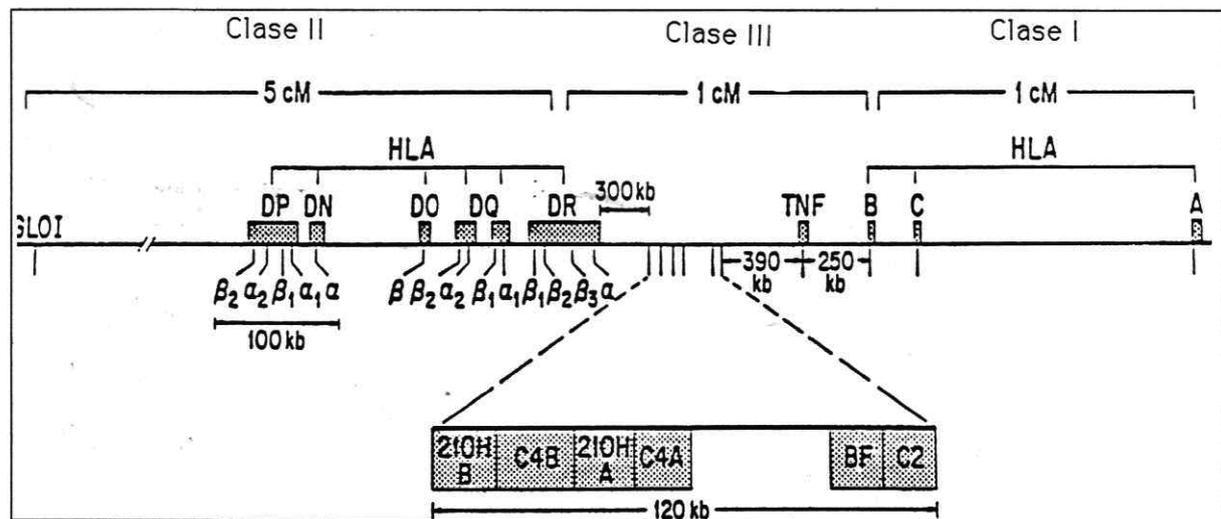


Figura 1.

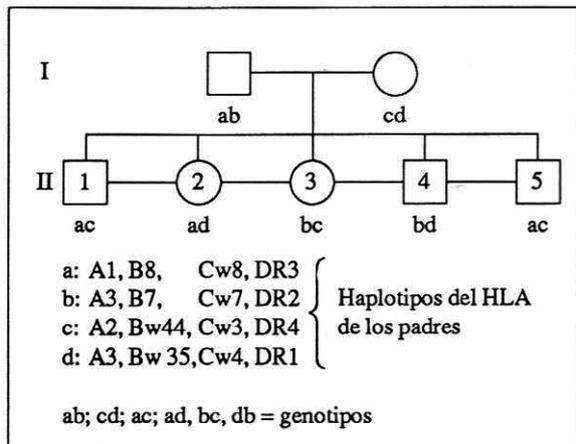


Figura 2. CMH. Segregación de los Haplotipos.

tes utilizando técnicas de biología molecular han establecido que el orden de los genes del complemento y de la 21-Hidroxilasa en el cromosoma 6 es el siguiente: C2, Bf, C4A, 21 OH- $\alpha$ , C4B y 21 OH- $\beta$ .

El complejo genético HLA es una región pequeña con frecuencia de recombinación muy baja, de tal forma que puede considerarse como una sola unidad genética que puede heredarse en bloque. El término haplotipo se utiliza para describir los alelos particulares de HLA-A, HLA-B, HLA-C, y HLA-DR, DP, DQ en cada uno de los cromosomas homólogos heredados por un individuo. Los dos haplotipos conforman el genotipo, y los antígenos constituyen el fenotipo. Los productos genéticos de cada uno de los isotipos de clase I y II se expresan en forma codominante en la superficie celular. Los haplotipos son transmitidos en forma codominante, así que cada hijo expresa un haplotipo materno y otro paterno (Figura 2). La mayoría de los individuos son heterocigotos para cada uno de los isotipos de este complejo; sin embargo se pueden encontrar algunos homocigotos cuando los padres poseen el mismo alelo en uno de los haplotipos.

Los antígenos de clase I están constituidos por cadenas polipeptídicas (22). Una de las cadenas es codificada por el CMH y tiene un peso molecular de 44 kD, y está unida a una cadena más pequeña de 12 kD no codificada por el CMH conocida con el nombre de  $\beta$ 2-microglobulina ( $\beta$ 2-m)

(22,23). La estructura de estas proteínas de membrana incluye tres dominios extracelulares de aproximadamente 90 aminoácidos cada uno, además, una región hidrofóbica transmembranosa de 25 aminoácidos y una región intracitoplásmica de 30 aminoácidos. Los dominios extracelulares, junto con la  $\beta$ 2-m, están dispuestos de manera simétrica en forma semejante a los dominios de las inmunoglobulinas; así mismo su secuencia de aminoácidos demuestra que el dominio  $\alpha$ 3 (el primero extracitoplásmico) y la  $\beta$ 2-m tienen homología con la región constante de las inmunoglobulinas. Estos dominios externos son polimorfos y son los responsables de la inmunogenicidad de las células pues constituyen los sitios reconocidos por las células citotóxicas y los anticuerpos. Los mapas genéticos obtenidos utilizando DNA recombinante han demostrado que existen entre 25 y 30 genes para la clase I (24,25).

La cadena liviana de la  $\beta$ 2-m se encuentra unida en forma no-covalente con uno de los tres dominios de las cadenas externas y no se encuentra unida a la membrana. Los antígenos de clase I del HLA no pueden ser expresados en la superficie celular cuando no se encuentran asociados con la  $\beta$ 2-m (Figuras 3A y 3B) (3,4,19,26). El grado de homología entre las diferentes cadenas de clase I varía: las dos cadenas pesadas, de dos alelos, pueden ser idénticas o diferir en 40 o 50 aminoácidos. Los isotipos A y B comparten alelos en aproximadamente un 80% de sus aminoácidos (4, 26). Un 20% de estas diferencias se encuentran a nivel de las cadenas pesadas. Los antígenos de los diferentes isotipos del HLA-A, B y C se identifican en los linfocitos de sangre periférica mediante la técnica de la citotoxicidad mediada por complemento, empleando para ello anticuerpos anti-HLA monoespecíficos. Muchos de estos anticuerpos han sido detectados por técnicas de anticuerpos monoclonales en el ratón. (3,4, 19).

Las moléculas de clase II del CMH juegan un papel de importancia en la configuración del sistema inmune; la expresión individual del arreglo de la molécula de clase II, ejerce una influencia positiva o negativa en el desarrollo intratímico del repertorio de la célula T y es el principal determi-

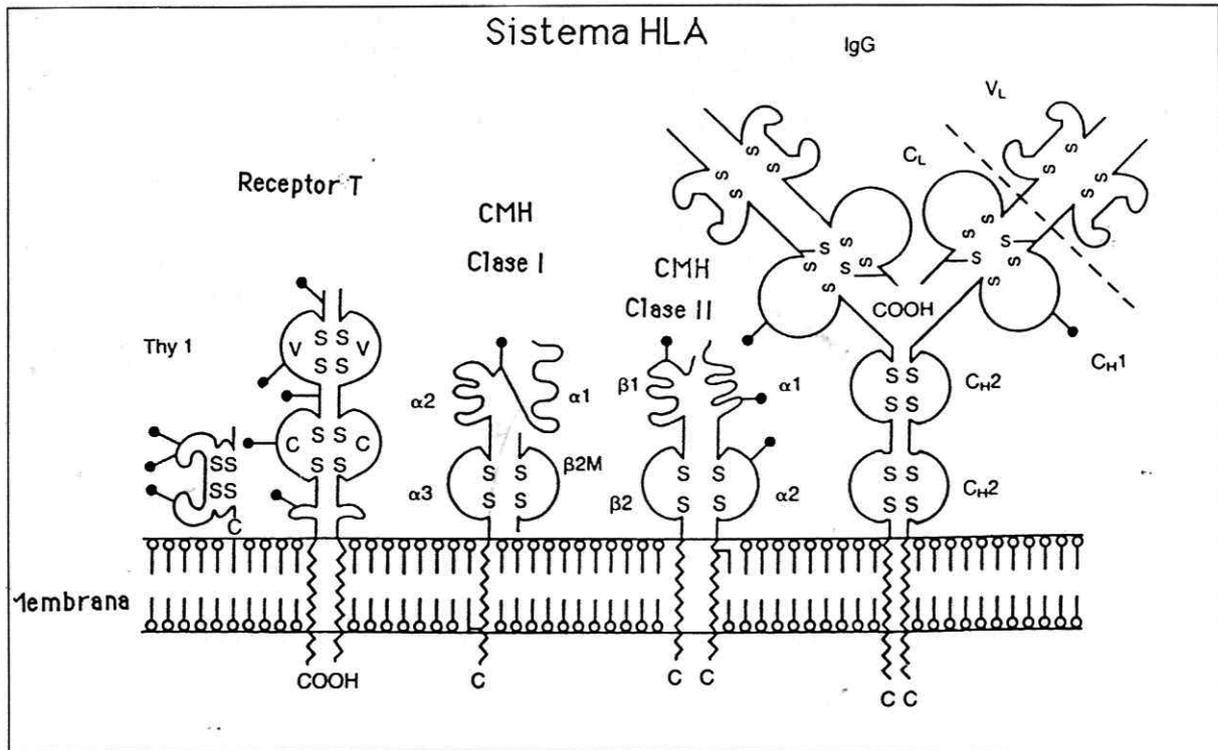


Figura 3A. Se observa la estructura molecular de los antígenos de clase I y II, el antígeno Thy-1, el receptor T y la inmunoglobulina G. Se puede apreciar la homología del dominio CH2 (IgG) con los dominios α2, β2 (molécula de clase II) y α3, β2m (molécula de clase I). Posiblemente esta homología se herede mediante un gen ancestral.

nante del fenotipo de la respuesta inmune (27,28, 29). En el hombre hay 3 tipos de moléculas distin-

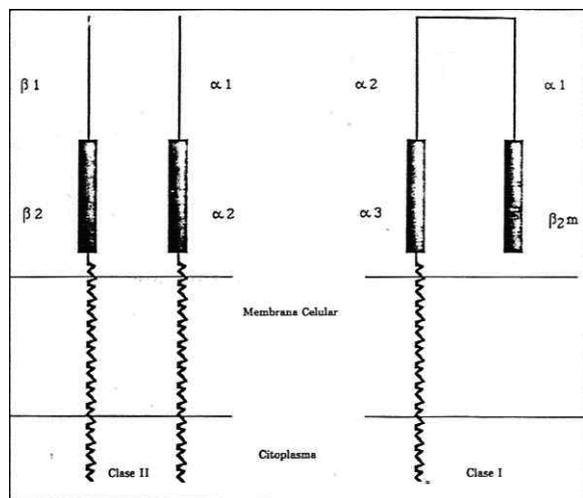


Figura 3B. Se observan los dominios de las cadenas α y β de los antígenos de la clase I y II que se encuentran cercanos a la membrana celular. Son similares a las inmunoglobulinas. Los dominios α1, β1 de la clase II y α2 y α1 de la clase I, que en la figura se encuentran dibujados como líneas, son variables y contienen la secuencia de aminoácidos reconocida por los anticuerpos y por las células T.

tas de clase II dentro de este complejo denominadas: DR, DP, DQ. (30, 31). Se sabe que el isotipo DR se encuentra localizado a un centimorgan del isotipo HLA-B. El isotipo HLA-DP se localiza entre HLA-DR y GLO-I. El isotipo D inicialmente se detectó empleando técnicas celulares (cultivo mixto de linfocitos), mientras que los antígenos DR fueron definidos utilizando técnicas serológicas (32). El ratón sólo expresa dos tipos de isotipos a nivel de los antígenos de clase II: el I-A y el I-E (3, 4, 19). Los productos codificados por estos loci se refieren genéticamente como isotipos y cada isotipo incluye una cadena α y una β y muestra además un considerable polimorfismo inter-alélico. La expresión a nivel de la membrana celular de las moléculas de clase II, requiere un ensamblaje intercelular de los dímeros α y β, los cuales son transportados posteriormente a la superficie celular (3,4, 19, 31, 32).

Los antígenos de clase II del CMH están formados por dos cadenas de glicoproteínas unidas

mediante enlaces no-covalentes, ligadas a la membrana por una porción intracelular (3,4, 19, 32); a estas cadenas se las llama  $\alpha$  y  $\beta$ . La cadena  $\alpha$  tiene un peso molecular de 34kD y la cadena  $\beta$  entre 27 y 30kD (la diferencia de peso entre ambas cadenas se debe a diferencias en su glicosilación, ya que la cadena  $\alpha$  contiene dos unidades de carbohidratos mientras que la cadena  $\beta$  sólo posee una). La cadena  $\beta$  consta de dos dominios, uno de ellos es variable ( $\beta 1$ ), mientras que la cadena  $\alpha$  posee dos dominios constantes. En el caso de HLA-DQ, las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  tienen dominios variables, pero en el caso de DP sólo encontramos dominio variable en la cadena  $\beta$ .

Los dos dominios proximales a la membrana celular ( $\alpha 2$ ,  $\beta 2$ ) forman pliegues similares a la estructura de las inmunoglobulinas. La estructura de los dominios extracelulares con el NH2 terminal ( $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ ) no se conoce pero se cree, de acuerdo con la estructura cristalográfica de la molécula de clase I HLA-A2, que la molécula se pliega en el sitio en donde se une a los diferentes péptidos (4, 31,33,34).

Los genes que codifican los antígenos de clase II contienen en la región HLA-D cerca de 1100 Kb a nivel del brazo corto del cromosoma 6. La región HLA-D tiene 3 sub-regiones: DP, DR, DQ. Las moléculas de la región D son las más polimórficas de las proteínas conocidas y a la vez cada gen que las genera tiene varios alelos. Este polimorfismo ha podido ser definido utilizando aloantisueros y anticuerpos monoclonales clase II específicos, gracias a la capacidad que tienen las células T de reconocer y proliferar en respuesta a moléculas alogénicas de clase II in vitro, prueba que se lleva a cabo en el laboratorio mediante el empleo del cultivo mixto, el cual define sub-tipos Dw (35-38). Desde 1985 estos sub-tipos de los antígenos de clase II se están estudiando a nivel molecular, específicamente en el DNA, utilizando para ello la técnica del análisis del Polimorfismo de la Longitud de los Fragmentos de Restricción cuya sigla en la literatura anglosajona es RFLP (39).

Los heterodímeros DR y DQ,  $\alpha$  y  $\beta$ , constituyen los principales antígenos definidos serológicamente y van del DR 1 al DRw14 y desde el DQw 1

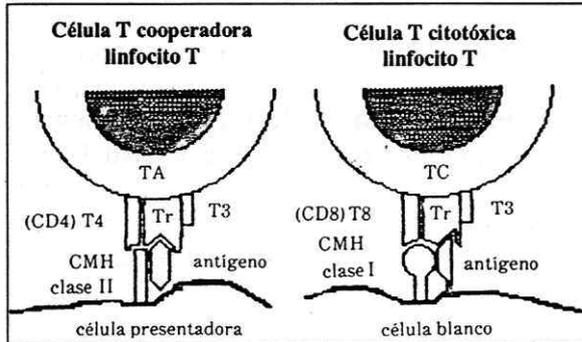
hasta el DQw3, existiendo el DQ0. Los antígenos de la sub-región DP, antiguamente denominada SB, sólo se pueden definir mediante el cultivo celular, que se realiza utilizando linfocitos previamente sensibilizados mediante la técnica denominada Primed Lymphocyte Typing o PLT (40).

El polimorfismo de las moléculas de clase II se encuentra localizado a nivel del primer dominio ( $\alpha 1$ ,  $\beta 1$ ); casi la mitad de los residuos de los 95 aminoácidos del primer dominio son polimórficos y la mayor parte se encuentran agrupados en 2 o 4 regiones alélicas de la región hipervariable de la molécula (31-34).

#### **Función del CMH en el Mecanismo de Restricción Antigénica**

Quizás esta sea la función más importante de este complejo genético. Ya se conoce la naturaleza molecular de esta función biológica, en la que el receptor de la célula T reconoce al antígeno extraño en el contexto de los antígenos de clase I y II del CMH. Existen varios trabajos que demuestran que el reconocimiento de las proteínas extrañas por los linfocitos T cooperadores, está dirigido a un número limitado de epitopes dentro de esos antígenos (41-44).

Estos estudios se basaron en la utilización de péptidos sintéticos en lugar de antígenos nativos para presentarlos a los linfocitos T. Estos péptidos inmunogénicos interactúan sobre la membrana del macrófago (o de las células presentadoras de antígeno) con las moléculas del CMH para producir complejos que sirven como ligantes para interactuar con el receptor del linfocito T o complejo bimolecular (44,45) (Figura 4). Se sabe que después de que el antígeno es catabolizado por las células presentadoras de antígeno, su producto final se adhiere a una región de la cadena de la molécula de CMH de clase II. El péptido inmunogénico de la proteína tiene porciones de secuencias de aminoácidos que se pueden aparear con un segmento receptor de la molécula de clase II. Por otro lado, el receptor T puede reconocer todos los péptidos que tengan un buen ligamento con un segmento dado de la molécula II a nivel de la región variable de dicha molécula. Esta última determina



**Figura 4.** Hipótesis para explicar el reconocimiento del antígeno por células T. La molécula CMH de clase II con un antígeno es reconocida por la molécula de CD4 en unión del complejo T3 con el receptor, de tal modo que existe restricción. En cambio la célula citotóxica estimulada por una célula blanco reconoce a la molécula CMH clase I en unión con antígeno por medio de la molécula CD8 unida al complejo T3 con el receptor, produciendo restricción inmunológica.

las diferencias entre los alelos de cada locus de los genes Ir o de respuesta inmune.

El receptor T de un linfocito reconoce exclusivamente una configuración antígeno-glicoproteína de clase II. Este fenómeno se denomina restricción inmunológica y esta célula T activada y su progenie sólo reconocerán la misma configuración cuando se encuentren de nuevo con un complejo antígeno-glicoproteína (46,47). Resulta importante resaltar que las regiones variables de las glicoproteínas clase II son reconocidas por una proporción de células T cooperadoras sin necesidad de que esté combinada con el antígeno, produciéndose la alorreactividad. Individuos idénticos en las regiones variables de la clase II no producen activación de las células T cooperadoras, en cambio una diferencia antigénica de la clase II, genera la diferenciación de las células T cooperadoras. El reconocimiento del fenómeno de la alorreactividad sugirió que la región HLA-D, que codifica las moléculas clase II en el humano, contiene los genes de la respuesta inmune en el hombre.

El desequilibrio de enlace genético se produce cuando alelos de dos o más loci se presentan juntos en una población, en el mismo haplotipo, con una frecuencia mayor que la esperada si su asociación fuera determinada al azar. Un ejemplo de lo anterior se encuentra en el haplotipo A1, B8, el cual tiene una frecuencia de 6.8% en la población

blanca americana comparada con la frecuencia esperada que es de 2% (4). Otro ejemplo de este fenómeno se presenta con los diferentes alelos de los genes del complemento (Bf, C2, C4A, C4B). Estos son loci que se encuentran ubicados entre HLA-B y HLA-DR. Estos genes son todos codificados por un segmento de ADN no mayor de 120 Kb (48). Los alelos de estos genes no están asociados al azar a nivel de la población, de tal forma que la combinación de 4 alelos de ellos se puede usar como marcador individual. Estos marcadores han sido denominados complotipos. Los estudios de familias realizados en caucásicos normales han establecido por lo menos una docena de complotipos (Tabla 2) (49, 50).

**Tabla 2.** Complotipos en caucásicos normales.

Complotipos	Frecuencia
SC31	0.389
SC01	0.127
FC31	0.112
SC30	0.064
SC42	0.050
SC61	0.031
SC21	0.028
FC(3,2)0	0.022
SC02	0.022
SC33	0.020
FC01	0.016
SB42	0.016

Toda esta región, que contiene los genes que codifican para el HLA-B, complotipos y HLA-DR, tiene una distancia de sólo un centimorgan. Estudios anteriores han demostrado que hay desequilibrio de enlace entre alelos de los isotipos HLA-B, los complotipos y la región HLA-D/DR.

Al conjunto de alelos heredados en bloque, que se expresan como una sola unidad genética, provenientes de cada una de esas regiones, se les denominan haplotipos extendidos (51). Las combinaciones más frecuentes de éstos se muestran en la Tabla 3.

Podemos entonces decir que, para muchos haplotipos extendidos, parece que los alelos en varios loci son los mismos y se comportan como si

Tabla 3. Haplotipos extendidos en caucásicos.

Haplotipos extendidos	Frecuencia
[HLA-B8, DR3, 2C01]	0.0762
[HLA-B7, DR2, SC31]	0.0700
[HLA-B44, DR4, SC30]	0.0311
[HLA-B44, DR7, FC31]	0.0295
[HLA-B57, DR7, SC61]	0.0171
[HLA-B35, DR1, FC(3,2)0]	0.0112
[HLA-B62, DR4, SC33]	0.0109
[HLA-B18, DR2, SO42]	0.0109
[HLA-B14, DR1, SC2(1,2)]	0.0109
[HLA-B38, DR4, SC21]	0.0080

ellos hubieran sido "congelados" en el mismo punto durante la evolución del hombre. El concepto del haplotipo extendido se puede ilustrar de esta manera: Si dos individuos poseen cromosomas del tipo A (con regiones asociadas en desequilibrio de enlace genético) y no como el tipo B (con regiones asociadas al azar) se puede asumir que las porciones de ADN intercaladas entre las regiones conocidas son idénticas. Las regiones a, b, c del cromosoma tipo B serán diferentes porque

el complotipo es diferente (50). De los resultados provenientes de estudios en otras especies de mamíferos se ha concluido, por analogía, que en los humanos los genes de la respuesta inmunitaria se encuentran en los loci de las regiones del genoma que codifican para HLA-DR, DP y DQ y que la selección a través de la evolución de estos alelos es la que ha determinado el desequilibrio de enlace genético (52, 53).

### La respuesta inmunitaria

La respuesta inmunitaria se encuentra mediada principalmente por tres tipos de células: Los linfocitos T(LT), los linfocitos B(LB) y los macrófagos(Mo). Los LB se diferencian hacia células plasmáticas productoras y células plasmáticas secretantes de anticuerpos en respuesta a un antígeno específico. Esta respuesta de anticuerpos se encuentra genéticamente determinada (54, 55) y está regulada por varias poblaciones celulares (Figura 5) (56). Las otras células importantes en la producción de anticuerpos son las diferentes subpoblaciones de LT, así como los Mo y los granu-

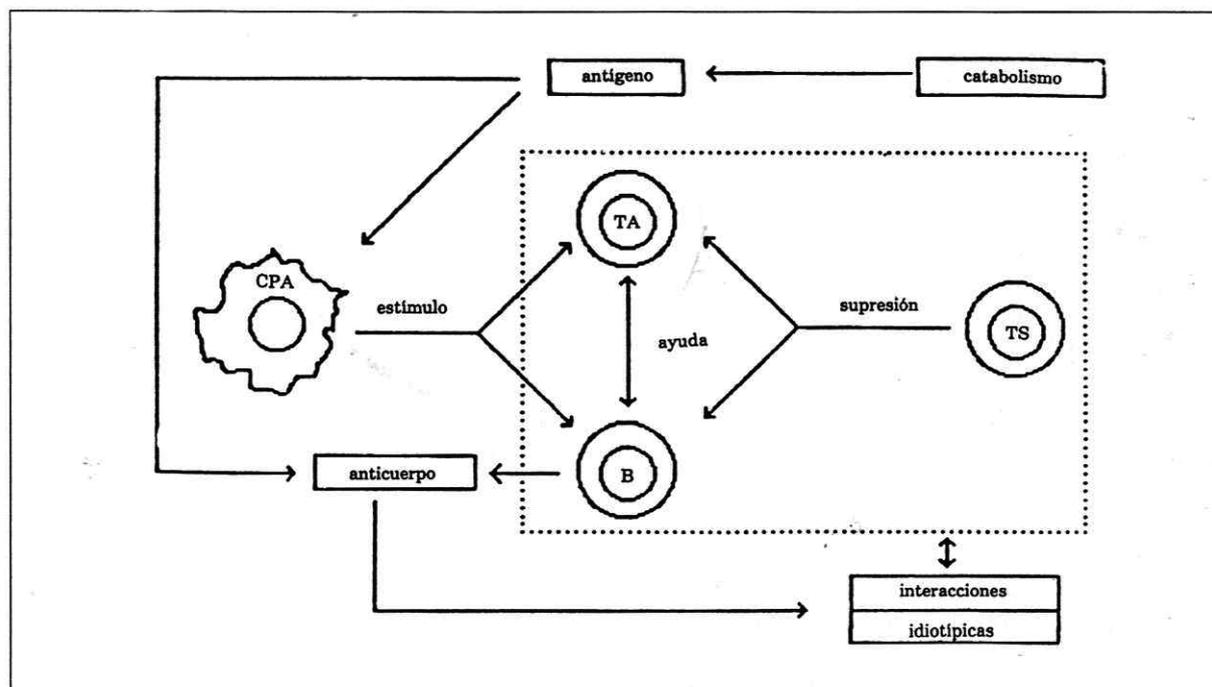


Figura 5. Inhibición por retroalimentación. Regulación de la respuesta inmune: un modelo mínimo de controles por anticuerpo, por células y por catabolismo del antígeno. CPA = célula presentadora de antígeno (célula adherente, i.e. macrófago). TA = célula cooperadora (linfocito T). B = linfocito B. TS = célula supresora (linfocito T.).

locitos. Todos ellos derivan de una célula pluripotencial presente en el hígado fetal y en la médula ósea (56).

Los LT interactúan con otras células para regular la respuesta inmunitaria; esto conlleva la producción de anticuerpos y tiene por objeto la eliminación de microorganismos, células y sustancias extrañas al organismo (57, 58), la producción de anticuerpos contra moléculas extrañas, la eliminación de células infectadas por virus y el mantenimiento de la tolerancia a lo propio. Los LT y LB tienen en común la posibilidad de expansión clonal pero, a diferencia de los LB, cuyos receptores son inmunoglobulinas localizadas a nivel de la membrana celular que se unen a antígenos proteicos intactos y específicos, el receptor de los LT es variable para los diferentes antígenos de acuerdo a los productos de rearreglo de los genes y dicho receptor se une solamente a polipéptidos pequeños que se encuentren unidos a glicoproteínas del CMH clase I o II o complejo bimolecular. Estos fragmentos polipeptídicos son producidos por degradación intracelular o procesamiento de proteínas extrañas, virus y bacterias, por las células presentadoras de antígenos. De esta forma las moléculas de clase I y II están unidas a pequeños péptidos que se le presentan al receptor del LT.

Los dos tipos de LT mejor caracterizados son los linfocitos T cooperadores y los linfocitos T con función citotóxica o con función supresora (59). Estas dos poblaciones celulares son reconocidas por la presencia de glicoproteínas en la membrana celular factibles de ser identificadas por el uso de anticuerpos monoclonales. El fenotipo de la célula T en el humano se denomina CD4 [T, P55] y puede detectarse mediante un anticuerpo monoclonal anti-T4 (anti-Leu3), tiene un peso molecular de 55 kD y el mismo antígeno en el ratón es el L3T4. La población de LT citotóxicos o con función supresora posee un fenotipo CD8 de 32kD, y se determina mediante un anticuerpo monoclonal anti-T8 (anti-Leu2); su equivalente en el ratón es el LyT2 (60).

Los linfocitos CD4 participan en el reconocimiento de los antígenos cuando éstos son presentados por las moléculas de clase II del CMH, mien-

tras que las células con el fenotipo CD8 reconocen el antígeno en asociación con las moléculas clase I del CMH. Los LT cooperadores están comprometidos en el reconocimiento antigénico, y se asocian a funciones efectoras restringidas o moduladas por los antígenos de clase II, mientras que las células T8, están restringidas o moduladas por los antígenos de clase I del CMH.

Además de los antígenos de clase I y II, que tienen un papel importante en la regulación de la respuesta inmune, otros genes no relacionados con el CMH juegan un papel importante en la inmunorregulación (1, 3,4, 6, 14, 19). Uno de los mecanismos importantes en el control de la respuesta inmune ha sido establecido a través de la ontogenia y filogenia del sistema inmune, ya que la unidad básica (o dominio) de las inmunoglobulinas, tiene una secuencia de aminoácidos homóloga a la cadena liviana de las moléculas clase I ( $\beta$ 2-m), que estabiliza las cadenas pesadas de los isotipos A, B y C y de esta manera ejerce un control específico. Las cadenas pesadas de los antígenos de clase I tienen dominios homólogos con las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ . Por ello desde el punto de vista evolutivo, esta homología estructural en los dominios de los antígenos de clase I y II, en los dominios de las inmunoglobulinas, en el receptor de las células T (cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ ) y a nivel de los receptores de los linfocitos B, constituye uno de los sistemas más evolucionados de los mamíferos para controlar la autonomía celular y la habilidad para responder a señales producidas por otras células (3,4,19,26).

El CMH tiene la habilidad de inducir o inhibir la expresión de programas genéticos en las células vecinas, inmunomodular una respuesta e inducir proliferación celular (3,4,19).

Las moléculas de los antígenos de clase II son receptores que se expresan en la superficie celular de LB, monocitos, células progenitoras de la médula ósea y LT activados; estos antígenos de clase II se unen a los fragmentos peptídicos y proteínas propias, y así de esta forma se las presenta al LT (33, 34). Las moléculas de clase II son capaces de reconocer un gran número de péptidos de diferentes secuencias de manera que constituye un receptor no específico. De acuerdo a la variable alélica

de la molécula de clase I puede o no imirse a un fragmento peptídico y de esta manera determinar la respuesta inmune (33, 34). Los receptores del LT cooperador reconocen fragmentos de proteínas extrañas sólo cuando se encuentran unidos a las moléculas de clase II. El polimorfismo de las moléculas de clase II, localizado principalmente en el primer dominio de su molécula, ejerce su influencia sobre la respuesta inmune a través del repertorio del LT por la unión peptídica, y así da lugar a la inducción o la supresión de la respuesta inmune en forma normal, o hace que ciertos isotipos de los antígenos de clase II induzcan susceptibilidad a ciertas enfermedades, especialmente en el caso de las entidades autoinmunes (33, 34).

### **Estructura y función de las moléculas de clase I**

Las glicoproteínas de las moléculas de clase I y II del CMH tienen semejanzas estructurales que posiblemente se deban a que se encuentran codificadas por genes que muy probablemente tuvieron un ancestro común durante la evolución. Los genes implicados en la expresión de las moléculas de clase I dentro del CMH varían entre los diferentes Phyla, clases y especies de animales y, en el ratón, incluso entre las diferentes cepas. Un hecho interesante en el contexto de los genes de los isotipos A, B y C es el relacionado con el polimorfismo. El número de alelos continúa incrementándose debido a que especialmente para la tipificación se están aplicando diferentes adelantos tecnológicos, como el RFLP y la PCR (Polymerization Chain Reaction) de tal manera que tenemos un enfoque más lógico en la comprensión de la naturaleza de los alelos, su evolución y su función especialmente en relación con la presentación antigénica. Los alelos de los isotipos HLA-A, B y C fueron los primeros en ser descritos durante el desarrollo de la inmunogenética. Como se dijo, las moléculas de los antígenos de clase I están conformadas por glicoproteínas transmembrana de cadena pesada, unidas en forma no-covalente con la  $\beta$ 2-m. La cadena pesada tiene un peso molecular de 44kD y la  $\beta$ 2-m tiene un peso molecular de 11.6kD (3, 4, 19, 26, 61-63). Las

cadena pesada se encuentran codificadas por el CMH y son bastante polimórficas, mientras que la  $\beta$ 2-m es codificada por genes localizados en el cromosoma 15 y no es polimórfica en el ser humano, pero es esencial para la expresión de los antígenos HLA-A, B y C a nivel de la superficie celular (3, 4, 19, 26, 61-63). Los trabajos acerca de la estructura primaria de las moléculas de clase I se han basado principalmente en algunas moléculas del HLA-A2, A28 y B7, B27 y Bw60; ya que las moléculas del locus C, además de la dificultad que presentan para ser aisladas, se degradan rápidamente (64-67).

Strominger y col. (66, 67) lograron cristalizar la molécula HLA-A2 empleando la digestión con papaina de las membranas plasmáticas de células linfoblastoides humanas homocigotes de la línea JY. La digestión de la cadena pesada con papaina se realiza a nivel del residuo 271, presentando 13 residuos de aminoácidos a nivel transmembrana, evidenciando una molécula compuesta por las cadenas  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 y  $\alpha$ 3 y por  $\beta$ 2-m (64-67). La estructura de la molécula A2 consiste en dos pares de dominios estructuralmente similares,  $\alpha$ 1 y  $\alpha$ 2, con una estructura terciaria similar. Existen dos formas de cristalización de la molécula A2, la forma monoclinica P21 y la ortorómbica P212121 (66). Otra molécula del isotipo A que ha sido cristalizada es la A28 (66,67)

Las moléculas de clase I se encuentran orientadas con la porción aminoterminal hacia la región extracelular y la porción carboxiterminal hacia el área intracelular. La molécula se encuentra dividida en cinco dominios pero el segmento extracelular de la cadena pesada comprende 3 dominios que se denominan  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 y  $\alpha$ 3, cada uno de los cuales tiene cerca de 90 residuos de aminoácidos (64-67). Los dominios  $\alpha$ 2 y  $\alpha$ 3 se encuentran conectados mediante puentes disulfuro compuestos por 63 y 86 aminoácidos respectivamente. La porción carboxiterminal se encuentra unida al dominio  $\alpha$ 3. El segmento transmembrana consta de 24 aminoácidos, la mayoría hidrofóbicos y el segmento intracelular de la molécula, que contiene el residuo carboxi-terminal, está formado por 30 aminoácidos esencialmente básicos (3, 4, 19, 26, 62-67).

Esta porción intracitoplasmática puede ser fosforilada en ciertas serinas, lo cual podría inducir la producción de señales durante la respuesta inmune (64-67).

El polimorfismo de las moléculas de los isotipos A, B y C se encuentra especialmente en los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  pero predomina en el  $\alpha 1$ . Existen algunos elementos comunes en los dominios extracelulares tales como su longitud. Los dominios  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$  están conectados por 90,92 y 93 aminoácidos respectivamente, los cuales son codificados en forma separada por un exón. El sitio de unión de los carbohidratos con el grupo amino-terminal se realiza con la aspargina 86, y los puentes disulfuro en el mismo dominio se forman entre los residuos de cisterna en la posición 101 y 164 en la cadena  $\alpha 2$  y entre los aminoácidos 203 y 259 en la cadena  $\alpha 3$ . La unión del antígeno ocurre entre las cadenas  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  con apoyo de la cadena  $\alpha 3$  y la  $\beta 2$ -m. En el sitio en donde se une el antígeno a las hélices de las cadenas  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  se encuentra una hendidura de 10Å mediante la cual al receptor de las células se le facilita interactuar con el extremo de las hélices  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  al igual que con los pequeños fragmentos peptídicos que se encuentran entre ellos.

El polimorfismo que se encuentra en los sitios de alta variabilidad de los dominios  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  de las diferentes moléculas de los isotipos A, B y C explica la diversidad de las uniones a los diferentes antígenos y el por qué de la mejor respuesta en los heterocigotos que en los homocigotos, además de que demuestra claramente el mecanismo de alo-antigenicidad.

El grado de homología entre las diferentes cadenas de la clase I varía. Por ejemplo las cadenas pesadas de los alelos pueden diferir en 40 o 50 aminoácidos o ser casi idénticas y variar solamente en uno o pocos aminoácidos. Al comparar las secuencias de aminoácidos entre los loci HLA-A y HLA-B se encuentra un alto grado de homología, de aproximadamente el 80%, homología que también se encuentra a nivel de los isotipos K y D del modelo murino, siendo el isotipo K del ratón más parecido al isotipo A del humano que el mismo locus B (3,4, 19,26, 62-67). Otro ejemplo de

homología es la que se da entre el alelo B27 del isotipo HLA-B y el alelo A2 del isotipo HLA-A que es del 86%. Las diferencias de alrededor del 20% observadas a nivel de las cadenas pesadas, casi siempre se encuentran localizadas en las regiones hipervariables de las moléculas, más exactamente entre los aminoácidos 65 a 80; 105 a 116 y 117 a 194. Esto sugiere que estas tres regiones pueden ser responsables de la diversidad antigénica de las moléculas de clase I en el humano. La homología entre los isotipos HLA-A y HLA-B descrita anteriormente nos lleva a pensar, de acuerdo con la teoría de la evolución que estos dos isotipos tuvieron origen en un solo gen ancestral que posteriormente se duplicó y dio origen por segregación, a los dos isotipos (3,4, 19, 26, 61-67).

Las moléculas de clase I participan en el reconocimiento y eliminación de las células infectadas por virus y, además, dichos antígenos son blanco para las células Killer o asesinas. Shaw y Beddison (68) comprobaron el papel primordial de las moléculas de clase I en la restricción de los LT citotóxicos, y fueron los primeros en documentar que tanto los antígenos virales, como las moléculas de clase I se expresan en las superficies celulares (3,4,19,26,67). Al mismo tiempo participan activamente en la regulación de la activación de los LT y LB inducida por diversos estímulos. Dasgupta y col (69, 70) han demostrado que el efecto supresor de los anticuerpos anti-clase I sobre la proliferación de los LT es monocito-macrófago dependiente, lo cual pone de manifiesto el papel de los antígenos de clase I como receptores y sus implicaciones en las señales transmembrana (69,70). Este mecanismo fue documentado por estos mismos investigadores al observar el proceso de internalización de los antígenos de clase I por medio de microscopía electrónica de la membrana celular de los macrófagos; para ello utilizaron oro coloidal, y el mecanismo de internalización se llevó a cabo por medio de endocitosis mediada por un receptor específico. El otro mecanismo en el cual los antígenos solubles pueden ser captados se lleva a cabo por fagocitosis o pinocitosis.

Los antígenos de clase I también tienen impli-

caciones no inmunológicas como son: la adhesión celular (71) y la unión a hormonas (72) a factores de crecimiento (73), a virus (74) y a sustancias quimiosensoriales (75).

De acuerdo a lo analizado anteriormente el papel de las moléculas de clase I es diverso, pero para lograr que dichas funciones se lleven a cabo es necesario que los antígenos extraños o las diferentes proteínas y péptidos sean transformados intracelularmente en pequeños péptidos que serán presentados por las moléculas de histocompatibilidad a los LT pues éstos no reconocen al antígeno en su forma nativa (67,76,77). Aún está por establecerse el mecanismo mediante el cual las moléculas de histocompatibilidad se unen al antígeno, cómo se produce la formación de un péptido para facilitar el reconocimiento por parte del receptor de los LT, si se produce una misma o diferente conformación molecular para su reconocimiento por los LT, cómo dicho receptor reconoce simultáneamente al péptido y a las moléculas de clase I y, finalmente, cuál sería la conformación molecular o estructural ideal para que un péptido sea mejor presentado que otro (65-67, 76,77). Estas inquietudes son fundamentales para entender en un futuro los mecanismos de salud y enfermedad.

### Las moléculas de clase II

Las moléculas de clase II son glicoproteínas heterodímeras que se expresan sobre la superficie celular de los macrófagos, el epitelio tímico, las células de Langerhans, los fibroblastos, las células epiteliales y endoteliales, los LB y los LT activados de los vertebrados y que constituyen los antígenos de clase II del CMH. Tienen la característica de responder inmunológicamente a una gran variedad de antígenos extraños.

Esta molécula está constituida por una cadena  $\alpha$ , con un peso molecular de 34 kD, unida en forma no covalente a una segunda cadena, la cadena  $\beta$ , que tiene un peso molecular de 29 kD (3,4,19, 33, 34). La diferencia de tamaño entre ambas cadenas se debe a que la cadena  $\alpha$  tiene dos glicanes unidos al NH2 terminal, mientras que la cadena  $\beta$  tiene solamente uno. Estos polipéptidos, como se observa en las figuras 3A y 3B, tienen cada uno de

ellos dos dominios extracelulares y, de éstos, el dominio próximo a la membrana celular ( $\alpha 2$  o  $\beta 2$ ) tiene una estructura en forma de pliegues, con una secuencia de aminoácidos muy parecida a la de los dominios de las inmunoglobulinas, y de las superfamilias de las inmunoglobulinas como los antígenos de clase I los receptores CD4 y CD8 de los LT (4, 31, 34, 78,79). La estructura del dominio extracelular NH2 terminal ( $\alpha 1$  o  $\beta 1$ ) no se conoce bien, pero también se encuentra en forma plegada con el fin de unirse al antígeno y la cadena  $\beta 1$  tiene un puente disulfuro del mismo tamaño que el que se encuentra en los dominios de las inmunoglobulinas. Es de anotar que la mayor parte del polimorfismo de los antígenos de clase II se encuentra localizado a este nivel. Además de los dominios extracelulares se encuentra una región transmembrana con una secuencia de 20 a 25 aminoácidos y una región intracelular de 8 a 15 aminoácidos.

Las proteínas de clase II fueron descritas inicialmente en el ratón y posteriormente se definió un heterodímero  $\alpha\beta$  en el humano. De acuerdo a una serie de estudios serológicos, bioquímicos e inmunogenéticos, se establecieron tres sub-regiones para los antígenos de clase II, denominadas: DR, DQ y DP (3, 4, 19, 31, 33, 34). Estas subregiones de la región HLA-D tienen una extensión de 1100 kilobases a nivel del brazo corto del cromosoma 6. Cada una de ellas expresa genes para las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$ , que son muy polimórficas debido a que cada gen tiene varios alelos (31, 33, 34, 80, 81). Este polimorfismo se ha podido comprobar mediante el empleo de antisueros y anticuerpos monoclonales, mediante el Cultivo Mixto de Linfocitos (30,32,36,37), con el empleo del RFLP y, finalmente, utilizando la secuencia de genes. Muchas de estas regiones se expresan en el individuo con una frecuencia mayor de la esperada, lo que constituye el fenómeno de desequilibrio de enlace (3,4,19,31,78-84).

Los LT cooperadores requieren de las moléculas de clase II como elemento de restricción durante el reconocimiento antigénico. En el ratón, y posiblemente también en el ser humano, la inmunoregulación normal esta determinada por: 1. Las

moléculas de clase II. 2. El polimorfismo de las moléculas de clase II a nivel de la secuencia de aminoácidos. 3. La habilidad de algunos péptidos inmunogénicos de unirse a las moléculas de la clase II (4, 31, 34, 67) (Figura 6).

Ya vimos en forma global cómo se encuentran constituidas los antígenos de clase II; veamos ahora en forma específica cada una de las subregiones.

**Subregion DR:** Durante el 7o. Taller Internacional de Histocompatibilidad en 1977 (85) fueron probados un gran número de antiseros anti-LB contra un panel de linfocitos tipificados a nivel de la región HLA-D. Sobre la base de su reactividad, estos antiseros se asociaron con HLA-D de especificidad previamente conocida; de esta manera se denominaron los 8 alelos del sistema antigénico de los LB, y se determinaron HLA-DR (D relacionado), enumerándose del DR1 al DR8. Los heterodímeros  $\alpha\beta$  de la subregión DR constituyen los alodeterminantes mejor conocidos serológicamente entre los antígenos de clase II (4, 31, 34, 81, 83, 84). Esta subregión DR es la única en la que la organización de los genes de la cadena  $\beta$  no es la misma para todos los haplotipos (31, 33, 34). Para ejemplificar esto, analicemos la estructura de algunos de ellos: DR3, se caracteriza porque tiene tres genes DR $\beta$ , que se designan como  $\beta$ I,  $\beta$ II,  $\beta$ III. No se ha podido establecer aún la orientación transcripcional de los genes de la cadena  $\alpha$  (31, 33). Respecto al DR4 no existe un concepto uniforme acerca de la conformación de

la molécula; se conocen dos genes que expresan la cadena B, uno de ellos con reacción cruzada con la especificidad supertípica DRw53, y un tercer gen que no se expresa o pseudo-gen (DR  $\beta$ W); y sólo se conoce un gen para la cadena  $\alpha$  o DR $\alpha$  (31,33). En cuanto a los haplotipos DR1 y DRw8, se caracterizan por tener una sola cadena  $\beta$ . Esta variabilidad en los genes y pseudo-genes de las cadenas se debe a una serie de mecanismos como la duplicación, la recombinación y el entrecruzamiento (31, 33). A nivel de la subregión DR también encontramos el fenómeno de especificidades supertípicas, que se descubrió al estudiar por medio de técnicas de biología molecular, como el Southern Blotting, los haplotipos del DR, que antiguamente se denominaban MT2 y MT3. Por medio de esta técnicas se pudo determinar que el MT2 o DRw52 y el MT3 o DRw53 comparten algunos arreglos moleculares con la cadena  $\beta$  de los haplotipos DR3, DR5 y DR6 en el caso del DRw52, y con los haplotipos DR4 y 7 en el caso del DRw53 (31, 33). Después de analizar cómo se han ido conformando los diferentes haplotipos relacionados con la sub-región DR, y con la ayuda de la biología molecular, se ha podido establecer que la subregión DR contiene un solo gen para la cadena  $\alpha$  y tres genes para la cadena  $\beta$ , de los cuales el gen de la segunda cadena o  $\beta$ II no se expresa y constituye un pseudogen; los otros dos genes, el  $\beta$ I y el  $\beta$ III codifican para cadenas  $\beta$  diferentes. Cada cadena se combina con la simple cadena  $\alpha$

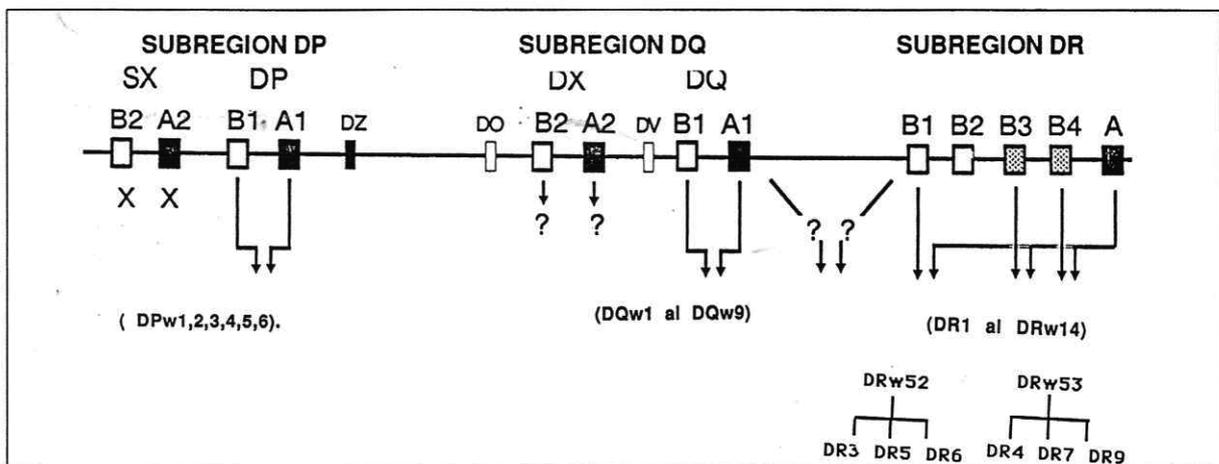


Figura 6. Región HLA-D.

para formar las diferentes moléculas DR, ejemplo DR $\alpha\beta$ I y DR $\alpha\beta$ III que son los que se expresan. La cadena  $\alpha$  no es polimórfica mientras que la cadena  $\beta$  es bastante polimórfica. Las moléculas del DR $\alpha\beta$ I constituyen los diferentes epítopes que van desde el DR1 hasta el DRw14, mientras que la molécula DR $\alpha\beta$ III es la responsable de los determinantes DRw52 y DRw53. Los epítopes del DR $\alpha\beta$ III comparten algunos epítopes con los diferentes tipos del DR, por ejemplo el DRw52 comparte epítopes comunes con el DR3, DR5, y DR6; y el DRw53 comparte otros epítopes con el DR4, DR7 y DR9.

Funcionalmente la expresión del DR se realiza al unirse una sola cadena  $\alpha$  con dos cadenas  $\beta$  en forma coordinada, pero dicha conjunción no se produce en todas las células, ya que los macrófagos pueden expresar algunas moléculas de las subregiones DR mientras que los LB expresan moléculas de las 3 subregiones; y si se lleva a cabo dicha expresión ésta suele ser variable ya que las moléculas DR $\alpha\beta$ I son más abundantes que las DR $\alpha\beta$ III y la subregión DR se expresa en forma más intensa que las subregiones DQ y DP (33). La expresión de las moléculas de clase II se puede inducir en los LB por la interleuquina 4, en los LT por contacto con antígenos específicos y en los macrófagos mediante el interferón  $\alpha$ .

Subregión DQ. En 1978, Tosi y col (86) y en 1979 Duquesnoy y col (87), estudiando la región D, encontraron una serie de antígenos detectados por medios serológicos y bioquímicos a los que designaron, de acuerdo con el comité de la OMS presidido por Bodmer en 1985, como HLA-DQ (88). Actualmente se reconoce como la subregión o isotipo DQ de la región D. Se ha podido determinar que algunos de sus alelos se encuentran en desequilibrio de enlace con el DR. Los heterodímeros  $\alpha\beta$  de las subregiones DR y DQ constituyen los antígenos mejor definidos serológicamente (43,31,33). En la subregión DQ existe un gen para las cadenas  $\beta$  y  $\alpha$  y, de acuerdo con los estudios funcionales de Nunez, Stastny y col (31) la expresión de la alta intensidad del HLA-DQ parece influenciar la activación de células T en el humano.

A diferencia de la subregión DR, en esta subregión tanto la cadena  $\alpha$  como la  $\beta$  son altamente polimórficas, aun cuando el polimorfismo es mayor en la cadena  $\beta$ . Debido a este gran polimorfismo es posible que la cadena  $\alpha$  sea codificada por un cromosoma que se herede de la madre y que se pueda unir con una cadena  $\beta$  codificada por un cromosoma paterno, de esta manera se forma un nuevo epítope híbrido que puede ser relevante en la predisposición a ciertas enfermedades (33).

Subregión DP. Antiguamente esta subregión se conocía por el nombre de determinantes SB, y fueron definidos mediante el empleo de la técnica denominada PLT (Primed Lymphocyte Test), inicialmente descrita por Fradelezi y Dausset (89) empleando cultivos celulares alorreactivos de LB previamente sensibilizados. Estudios desarrollados en familias con haplotipos idénticos a nivel de los isotipos A, B, C y DR, demostraron que en algunos casos inducían proliferación. Este hallazgo sirvió de base para pensar en la existencia de una subregión diferente al DR. Fue durante el noveno Taller Internacional cuando se identificaron los primeros determinantes DPw (DPw1, 2,3,4,5,6) (90). Nadler y col (91), utilizando anticuerpos monoclonales y mediante estudios bioquímicos, han podido identificar algunos antígenos de la subregión DP de la clase II (92). Sin embargo aún no se han podido establecer métodos serológicos para detectar los aloantígenos DP. La carencia de los aloantisueros puede estar determinada por un bajo nivel de expresión o un polimorfismo limitado (31).

La subregión DP contiene genes (DP $\alpha$  y DP $\beta$ ), que codifican la expresión de los productos DP como también de los pseudogenes denominados SX $\alpha$  y SX $\beta$ , también conocidos como DP $\alpha$ 2 y DP $\beta$ 2. La cadena DP $\alpha$  es prácticamente invariable. Estudios bioquímicos han demostrado que existen solamente dos formas, una de las cuales se asocia con los alelos DPw2, DPw3, DPw4 y DPw6 y la otra con DPw1 y DPw5. En contraste la cadena DP $\beta$  es más polimórfica, aunque en un grado significativamente menor que el encontrado en DR $\beta$  o DQ $\beta$ . Un análisis de los 4 alelos del dominio  $\beta$ 1 de la cadena DP $\beta$  demuestra que existen 14

posiciones polimórficas, comparado con 37 encontrados en la cadena DR $\beta$  o 29 en la cadena DQ $\beta$  (31,33).

Al analizar funcionalmente la expresión de las moléculas de clase II, los diferentes polimorfismos, la posibilidad de moléculas híbridas en la subregión DQ con la DR, el número de moléculas de clase II diferentes es bastante amplio. Esto plantea el gran potencial que tiene un individuo de presentar un antígeno mediante moléculas de clase II a los LT cooperadores y, por ende, la magnitud de la diversidad de la respuesta inmunitaria y podría también plantear los diferentes trastornos que se presentan en la inmunorregulación con respecto a la presentación antigénica.

#### ABSTRACT

The immune system is an important part of general health maintenance mechanisms. For this purpose, it requires a very refined network of regulatory steps that allow for recognition, processing, amplification and/or suppression of the immune response. This review discusses in detail this refined and sophisticated system.

#### REFERENCIAS

1. **McDevitt HO, Chinitz A.** Genetic control of Antibody response: relationship between immune response and histocompatibility (H-2) type. *Science* 1969; **163**:1207.
2. **Shreffler DC, David CS.** The H-2 major histocompatibility complex and the immune response region: genetic variation, function and organization. *Adv Immunol* 1975; **20**: 125-142.
3. **Klein J.** *Immunology. The science of self nonself discrimination.* Wiley interscience publication; 1982: 458-459.
4. **Yunis EJ, Dupont B.** The HLA system. En Natham D, Oski F (eds). *Hematology of Infancy and Childhood*, Philadelphia. *WB Saunders*.
5. **Francke U, Pellegrino MA.** Assignment of the major histocompatibility complex to a region of the short arm of chromosome 6. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; **74**: 1147-1158.
6. **Levine BB, Ojeda A, Benacerraf B.** Studies on artificial antigens. III. The genetic control of the immune response to hapten poly-L-lysine conjugates in guinea pigs. *J Exp Med* 1963; **118**: 953.
7. **Levine BB, Benacerraf B.** Genetic control in guinea pigs of the immune response to conjugates of haptens and poly-L-lysine. *Science* 1956; **147**:517.
8. **Benacerraf B, Bluestein HG, Green I, Ellman L.** Specific immune response genes of guinea pigs. Progress in immunology. In Amos B, ed. First International Congress of immunology. New York: *Academic Press*, 1971.
9. **McDevitt HO, Sela M.** Genetic control of the antibody response. I. Demonstration of determinant specific differences in response to synthetic polypeptide antigens in two strains of inbred mice. *J Exp Med* 1965; **122**:517.
10. **McDevitt HO, Deak BD, Schreffler DC, Klein J, Stimling JH, Snell GD.** Genetic control of the immune response. Mapping of the Ir locus. *J Exp Med* 1972; **135**: 129.
11. **Rosenthal AS, Shevach EM.** Function of macrophages in antigen recognition by guinea pig T lymphocytes. I. Requirement for histocompatible macrophages and lymphocytes. *J Exp Med* 1973; **138**:1194.
12. **Zinkernagel RM, Doherty PC.** MHC restricted cytotoxic T cells: Studies on the biological role of the polymorphic major transplantation antigens determining T cell restriction-specificity, function and responsiveness. *Adv Immunol* 1979; **27**: 51-64.
13. **Zinkernagel RM, Doherty PC.** Restriction of in vitro T cell mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis within a syngenic of semi-allogenic system. *Nature* 1974; **248**: 701-707.
14. **Dorf ME, Benacerraf B.** Suppressor cells and immunoregulation. *Ann Rev Immunol* 1984; **2**: 127-133.
15. **Flomenberg N, Naito K, et al.** Allogeneic cytotoxic T cell clones: Both Leu 2+3- and Leu 2-3+ T cells recognize class I histocompatibility antigens. *Eur J Immunol* 1983; **13**: 905-1002.
16. **Gershon KK, Kondo K.** Cell interactions in the induction of tolerance: the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 1970; **17**: 42-51.
17. **Dupont B, Oberfield SE, et al.** Close genetic linkage between HLA and congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency). *Lancet* 1977; **2**:1309-1312.
18. **Hew MI, Dupont B, et al.** Congenital adrenal hyperplasia and related conditions. In Stanbury JC, Wyngaarden JB, et al (eds). *The metabolic basis of the inherited diseases*. 5th ed. New York: Mc Graw Hill, 1983: 973-1000.
19. **Klein J.** Natural history of the major histocompatibility complex. *Wiley-Interscience publication*, 1986:1-23.
20. **Schneider PM.** Polymorphism of the human complement C4 and steroid 21-hydroxylase genes. *J Clin Invest* 1986; **78**: 650-657.
21. **Carroll MC, Katzman P, Alicot EM, et al.** Linkage map of the human major histocompatibility complex including the tumor necrosis factor genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 8535-8539.
22. **Cresswell P, Springer T, Strominger JL, Turner M J, Grey HM, Kubo RT.** Immunological identity of the small subunit of HLA antigens and B2-microglobulin and its turnover on the cell membrane. *Proc Acad Sci USA* 1974; **71**: 2123-2127.
23. **Tragold L, Wiman K, Peterson PA.** Fragmentation of the human transplantation heavy chain by limited proteolysis acid cleavage and cyanogen bromide treatment. *Biochemistry* 1979; **18**: 1322-1328.
24. **Terhost C, Parham P, Mann DL, Strominger JL.** Structure of HLA antigens aminoacid and carbohydrate compositions and NH2-terminal sequence for four antigen preparations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; **75**: 3390-3394.
25. **Shackelford DA, Kaufman AJ, Strominger JL.** HLA-DR antigens: Structure separation of sub-populations gene cloning and function. *Immunol Rev* 1982; **66**: 133-137.
26. **Parham P, Coppin H, et al.** Biochemical approaches to understanding the structure and function of class I MHC (HLA-A, B, C molecules). En: *Lymphocyte surface antigens*. ASHI publication; 1984:1-34.
27. **Rouse R V, Van Ewisk W, et al.** Expression of MHC antigen by mouse thymic dendritic cells. *J Immunol* 1979; **122**: 2508-2516.
28. **Van Ewisk W, Rouse RV, et al.** Distribution of H-2 micro-environments in the mouse thymus. *J Histochem Cytochem* 1980; **28**:1089-1097.
29. **Rouse RV, Parham P, et al.** Expression of HLA antigens by human thymic epithelial cells. *Human Immunol* 1982; **5**: 21-29.
30. **Thorsby E, Albrechtssen DL, Hirschberg H, Kaakinen A, Solheim BG.** MLC-Activating HLA-D determinants; identification, tissue distribution and significance. *Transpl Proc* **9**: 393-400.
31. **Kappes D, Strominger JL.** Human class II major histocompatibility complex genes and proteins. *Ann Rev Biochem* 1988; **57**: 991-1028.

32. **Schwaet BD, Cullen SE.** Chemical characteristics of I-A antigens. *Springer Sem Immunopath* 1978;185-190.
33. **Lechler RI.** MHC class II molecular structure permitted pairs. *Immunology Today* 1988; **9**: 76-78.
34. **Todd JA, Acha-Orbea H, Bell JH, McDevitt HO, et al.** A molecular basis for MHC class II associated autoimmunity. *Science* 1988; **240**:1003-1009.
35. **Yunis EJ, Amos DB.** Three closely linked systems relevant to transplantation. *Proc Nat Acad Sci USA*: 1971; **68**: 3031-3035.
36. **Dupont B, Hansen JA, et al.** Human Mixed lymphocyte culture reaction: genetics, specificity and biological implications. *Adv Immunol* 1976; **23**: 107-114.
37. **Dupont B, Jersild C, et al.** Typing for MLC determinants by means of LD-homozygous and LD-heterozygous test cells. *Transpl Proc* 1973; **5**: 1543-1552.
38. **Van Leeuwen A, Schuit HRE, et al.** Typing for MLC (LD) II. The selection of nonstimulator cells by MLC inhibition test using SD-identical stimulator cells (Misis) and fluorescence antibody studies. *Transpl Proc* 1973; **5**:1539-1544.
39. **Orr HT.** Use of southernblotting to analyze the size and restriction fragment polymorphism of HLA class I DNA in the human population. *Transpl Proc* 1983; **15**: 1900.
40. **Shaw S, Johnson AH, et al.** Evidence for a new segment series of B cell antigens that are encoded in the HLA-D region and that stimulate secondary allogenic proliferation and cytotoxic responses. *J Exp Med* 1980; **12**:565-574.
41. **Finnegan A, Smith M, Smith J, Berzofsky J, Sachs D, Hodes R.** The T cell repertoire for recognition of a phylogenetically distant protein antigen. Peptide specificity and MHC restriction of staphylococcal nuclease-specific T cell clones. *J Exp Med* 1986; **164**: 897-910.
42. **Schwartz R, Fox BS, Fraga E, Chen CH, Singh B.** The T lymphocyte response to cytochrome C. *J Immunol* 1985; **135**: 2598-2608.
43. **Berkower I, Matis LA, Buckenmeyer GK, Gurd Frank RN, Longo DL, Berzofsky JA.** Identification of distinct predominant epitope recognized by mioglobulin-specific T cells under the control of different Ir genes and characterization of representative T cell clones. *J Immunol* 1984; **132**:1370-1378.
44. **Babbitt BP, Allen PM, Matsueda G, Haber E, Unanue ER.** Binding of immunogenic peptides to I-A histocompatibility molecules. *Nature* 1985; **317**:359-361.
45. **Babbitt BP, Matsueda G, Haber E, Unanue ER, Allen P.** Antigenic competition at the level of peptide-I-A binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; **83**:4509-4513.
46. **Buus S, Colon S, Smith C, Freed JH, Miles C, Grey HM.** Interaction between a "processed" ovalbumin peptide and Ia molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; **83**: 3968-3971.
47. **Guillet J, Ming-zong ZL, Brinner TJ, et al.** Immunological self, non-self discrimination 1986; **235**: 865-870.
48. **Alper CA, Awdeh ZL, Yunis EJ.** Complotypes, extended haplotypes, male segregation distortion and disease markers. *Human Immunology* 1986; **15**: 366-373.
49. **Alper CA, Raum D, Karp S, Awdeh ZL, Yunis EJ.** Serum complement "supergenes" of the major histocompatibility complex in man (Complotypes). *Vox Sang* 1983; **45**: 62-67.
50. **Alper C A, Awdeh ZL, Raum D, Yunis EJ.** Extended major histocompatibility complex haplotypes in man: Role of allelos analogous to murine T mutants. *Clin Immunology and Immunopathol* 1982; **24**: 276-285.
51. **Awdeh ZL, Raum D, Yunis EJ, Alper CA.** Extended HLA complement allele haplotype: Evidence for TA like complex in man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; **80**: 259-263.
52. **Bodmer WF, Bodmer JG.** The HLA system: Introduction. *Br Med Bull* 1978; **34**: 309-316.
53. **Amos DB, Pool P, Grier J.** HLA-A, HLA-B, HLA-C and HLA-DR. En Rose NR, Friedman H, eds. Manual of Clinical Immunology. American Society for Microbiology; 1980: 978.
54. **Reinherz EL, Schlossman S.** The differentiation and function of human T lymphocytes. *Cell* 1980; **19**: 821-826.
55. **Bronet JC.** The origin of human B and T cells from multipotent stem cells. A study of the TN syndrome. *Eur J Immunol* 1983; **13**: 350-355.
56. **Moller G.** Ontogeny of human lymphocyte function. *Immunol Rev* 1981; **57**: 1-10.
57. **Rosenthal AS.** Determinant selection and macrophage function in genetic control of the immune response. *Immunol Rev* 1978; **40**: 136-152.
58. **Geha RS, Milgrom H, Broff M, Alper S, Martin S, Yunis EJ.** Effect of anti-HLA antisera on macrophage-T cell interaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; **76**(8): 4038-4041.
59. **Cantor H, Boyse EA.** Functional subclasses of T lymphocytes bearing different Ly antigens II. Cooperation between subclasses of Ly and Ly+ cells in the generation of killer activity. *J Exp Med* 1975; **141**:1390.
60. **Nomenclature Committee IUIS/WHO.** Leukocyte differentiation antigens. En Barnard A, Bounsell L, et al, eds. Leukocyte Typing. Berlin: Springer-Verlag, 1984:133.
61. **Wermers, GW, Band H, Yunis EJ.** Role of the HLA system in antigen recognition and disease. Second Edition. En: Arias IM, Jakoby WB, Popper H, Schachter D, Ahafritz DA, eds. The liver Biology and Pathobiology. New York: Raven Press Ltd; 1988: 885-896.
62. **Bodmer WF.** HLA today. *Hum Immunol* 1986; **17**: 490-503.
63. **Wake CT.** The molecular biology of the HLA class I and class II genes. *Mol Biol Med* 1986; **3**:1-11.
64. **Bjorkman PJ, et al.** Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* 1987; **329**: 506-508.
65. **Mary JL.** Structure of MHC Protein solved. *Science* 1987; **238**: 614.
66. **Bjorkman PJ, Saper MA, Samraomi B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC.** Structure of the human class I histocompatibility antigen HLA-A2. *Nature* 1987; **329**:506-512.
67. **Bjorkman PJ, Saper MA, Samraomi B, Bennett WS, Strominger JL, Wiley DC.** The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature* 1987; **329**: 512-518.
68. **Shaw S, Beddison WE.** HLA-linked genetic control of the specificity of human cytotoxic T-cell responses to influenza virus. *J Exp Med* 1979; **149**:565-572
69. **Dasgupta JD, Cemach K, Dubey DP, Yunis EJ, Amos DB.** The role of class I histocompatibility antigens in the regulation of T cell activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; **84**: 1094-1099.
70. **Dasgupta JD, Yunis EJ.** Receptor like role of HLA class I antigens: Regulation of T cell activation. *J Immunol* 1987; **139**: 672-679.
71. **Bartlett PF, Edidin M.** Effect of the H-2 gene complex on rates of fibroblast intracellular adhesion. *J Cell Biol* 1978; **77**: 377-383.
72. **Lafuse W, Edidin M.** Influence of the mouse major histocompatibility complex H-2, on liver adenylate cyclase activity and on glucagon binding to liver cell membranes. *Biochemistry* 1980; **19**: 49-56.
73. **Schreiber AB, Schleissinger J, Edidin M.** Interaction between major histocompatibility complex antigen and epidermal growth receptors on human cells. *J Cell Biol* 1984; **725**-732.
74. **Helenius A, Morein B, Fries E, et al.** Human (HLA-A and HLA-B) and murine (H-2k and H-2d) histocompatibility antigens are cell surface receptors for semiliki forest virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; **75**: 3846-3853.
75. **Yamazaki K, Beauchamp GK, Bards J, Thomas L, Boyse EA.** Chemosensory recognition of phenotypes determined by the Tla and H-2k regions of chromosome 17 of the mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; **79**: 7828-7835.
76. **Shimonkevitz R, Kappler J, Marrack P, Grey H.** Antigen recognition by H-2, restricted T cells. I. Cell-free antigen processing. *J Exp Med* 1983; **158**:303-316.

77. **Babbitt BP, Allen PM, Matsueda G, Haber E, Unanue ER.** Binding of immunogenic peptides to Ia histocompatibility molecules. *Nature* 1985; **317**:359-362.
78. **Korman AJ, Auffray G, et al.** The amino-acid sequence and gene organization of the heavy chain of the HLA-DR antigen: Homology to immunoglobulins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; **79**: 6013-6019.
79. **Larhammar D, Schenning L, et al.** Complete aminoacid sequence of an HLA-DR antigen like beta chain as predicted from the nucleotide sequence: Similarities with immunoglobulins and HLA-A, B, and C antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; **79**: 3687-3693.
80. **Lee JS, Trosdale S, et al.** Sequence of an HLA-DR chain cDNA clone and intron-exon organization of the corresponding gene. *Nature* 1982; **299**:75-753.
81. **Spielman RS, Lee JS, et al.** Six HLA-D regional alpha chain genes of the human chromosoma 6: Polymorphisms and associations of DC alpha related sequences with DR types. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; **81**: 3461-3466.
82. **Long EO, Wake CT, et al.** Complete sequence of an HLA-DR beta chain genes. *EMBO* 1983; **2**: 384-390.
83. **Hardy DA, Bell JI, et al.** Mapping of the class II region of the human major histocompatibility complex by pulse-field gel electrophoresis. *Nature* 1986; **323**:453-457.
84. **Wake CT, Long EO, et al.** Allelic polymorphisms and complexity of the genes for HLA-DR beta chains direct analysis by DNA-DNA hybridization. *Nature* 1982; **300**: 372-374.
85. **1977 WHO-IUIS terminology Committee in histocompatibility testing.** Nomenclature for factors of the HLA system. En Bodmer W, Batchelor JR, et al, eds. Copenhagen: Munksgard, 1978:14.
86. **Tosi R, Tanigaki N, et al.** Immunological dissection of human Ia molecules. *J Exp Med* 1978; **148**: 1592-1602.
87. **Duquesnoy RJ, Marrari M, et al.** Identification of an HLA-DR associated system B cell alloantigens. *Transpl Proc* 1979; **11**: 1757-1764.
88. **WHO Committee, Bodmer WF, Albert E, et al.** Nomenclature for factors of the HLA system. *Vox Sang* 1985; **48**: 42-47.
89. **Fradelizi D, Dausset J.** Mixed lymphocyte reactivity of human lymphocytes primed in vitro. I. Secondary response to allogenic lymphocytes. *Eur J Immunol* 1975; **5**:295-299.
90. **Tenth International Histocompatibility conference.** November 18-21, 1987. New York.
91. **Nadler LM, Slashenko P, et al.** Monoclonal antibody identifies a new Ia-like (p29,34) polymorphic system linked to the HLA-DR region. *Nature* 1981; **290**: 591-596.
92. **Hurley CK, Shaw S, et al.** Alpha and beta chain of SB and DR antigens are structurally distinct. *J Exp Med* 1982; **156**: 1557-1563.