

HLA-G y su función en trasplantes de órganos sólidos

HLA-G and its role in solid organ transplants

Jorge Andrés Becerra Romero

RESUMEN

El trasplante de órganos sólidos se ha considerado el fin último para algunas enfermedades crónicas en estadio terminal, sin embargo, las incompatibilidades del HLA entre el donante y el receptor pueden permitir que la alorespuesta se convierta en nociva para el órgano trasplantado, respuesta que puede ser tanto innata como adaptativa. Se ha identificado el HLA-G como una molécula natural inductora de tolerancia⁽²⁸⁾ principalmente en el embarazo y se considera una molécula del HLA clase I no clásico, sin embargo, comparte algunas características estructurales con el HLA clásico. Los genes HLA-G se caracterizan por tener un limitado polimorfismo y una distribución celular y tisular restringida al trofoblasto fetal y células del epitelio tímico entre otras. La búsqueda persistente de la tolerancia en los trasplantes de órganos ha permitido un estudio específico del HLA-G, como posibilidad terapéutica para aumentar la supervivencia tanto de los injertos como de los pacientes trasplantados, es por tal motivo que se realiza una revisión en dicha molécula para estimular la investigación y entendimiento de sus funciones.

PALABRAS CLAVE: antígeno leucocitario humano G; trasplante de órganos; supervivencia

ABSTRACT

Solid organ transplantation has been considered the ultimate goal for some end-stage chronic diseases, however, HLA incompatibilities between the donor and the recipient may allow the alloresponse to become deleterious for the transplanted organ, a response that can be both innate and adaptive.

HLA-G has been identified as a natural tolerance-inducing molecule⁽²⁸⁾ mainly in pregnancy and is considered a non-classical HLA class I molecule; however, it shares some structural characteristics with classic HLA. HLA-G genes are characterized by having a limited polymorphism and a cellular and tissue distribution restricted to the fetal trophoblast and thymic epithelial cells, among others. The persistent search for tolerance in organ transplants has allowed a specific study of HLA-G, as a therapeutic possibility to increase grafts and transplant patient's survival; for this reason we carried out a review of this molecule to stimulate research and understanding of its functions.

KEYWORDS: human leukocyte antigen G; organ transplant; survival

INTRODUCCIÓN

El HLA-G está relacionado con la inducción de tolerancia materno-fetal. Se localiza en el trofoblasto extraveloso favorecido por la IL-10, que participa en la producción de citoquinas por parte de los macrófagos de la interfase.⁽³²⁾ Es capaz de inhibir la actividad de las células NK de los leucocitos de la decidua y disminuir los linfocitos T citotóxicos durante la respuesta de proliferación de células T en la reacción primaria alogénica.⁽¹²⁾

El locus del HLA-G fue descrito inicialmente en el citotrofoblasto extraveloso de la interfase materno fetal por Geraghty en 1987, denominado como HLA-6.0. El HLA-G inicialmente se localizó en la región 6p21, muy cerca del

*Magister en Ciencias
Básicas Biomédicas,
Cirujano de Trasplantes
de Órganos Abdominales,
Hospital San Vicente
Fundación Rionegro,
Medellín, Colombia*

Correspondencia:
J. A. Becerra Romero
ORCID: 0000-0002-4027-
4984
andresbecerraromero@
gmail.com

Financiamiento:
Ninguno.

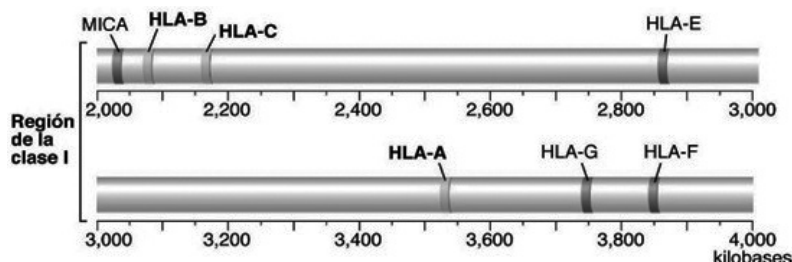
Conflicto de intereses:
Ninguno

Recibido: 27-08-2021
Corregida: 14-09-2021
Aceptación: 05-11-2021

HLA-A (**Figura 1**). Este se identificó durante una investigación de genes similares de la clase Ia. Para ello, clonaron el DNA genómico que codificaba para un gen clase I (que no codificaba para HLA-A, -B y C) localizado en el fragmento de restricción de

6.0 kb, generado por la enzima Hind-III. Este gen, tenía homología con el HLA-A y B, excepto en la ausencia del exón 7, con un codón de terminación en la región citoplasmática en el exón 6.⁽¹⁰⁾

Figura 1. Mapa del CMH humano



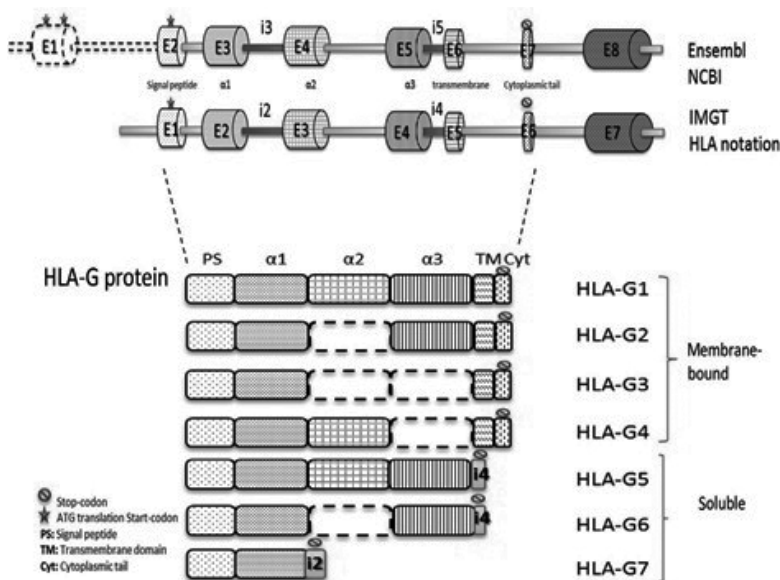
Abbas, Lichtman, Pillai, 2015⁽³⁾

Un locus similar denominado CMH-G, también se ha identificado en primates no humanos, tanto en esta era como en épocas pasadas,⁽⁹⁾ sin embargo, no se ha encontrado una estructura similar por fuera de los primates.

El HLA-G es una molécula clase I no clásica (Ib) que adopta 7 isoformas, 4 se encuentran ligadas con la membrana (HLA G1,-G2,-G3,-G4) y otras 3 formas son solubles (HLA-G5, -G6,-G7) y tienen en común el dominio extracelular alfa 1.

La secuencia y estructura del gen HLA-G muestra gran homología con la de los genes HLA clase I clásicos con 3 dominios alfa, α_1 , α_2 y α_3 asociados covalentemente con la β_2 microglobulina. Tiene 8 exones, 7 intrones y la región 3'UTR, pero a diferencia de los genes anteriores, presenta un codón de parada en el exón 6, lo que genera una proteína más corta comparada con las moléculas clásicas del HLA clase I.⁽²⁾ (**Figura 2**)

Figura 2. Locus del HLA-G y sus isoformas



Carosella, Rouas-Freiss, Tronik-Le Roux, et al., 2015⁽¹⁾

Las principales características que diferencian al HLA- G de los genes del HLA clásicos son:⁽⁹⁾

- Variabilidad proteica limitada
- Splicing alternativo que genera varias isoformas solubles

- Colas citoplasmáticas cortas
- Modulación a la respuesta inmunológica (Inmunotolerancia)
- Expresión restringida en ciertos tejidos

Perspectiva histórica

El sueño de los trasplantes es uno de los más antiguos de la humanidad, evidenciados a través de la historia como parte de la mitología en cada una de las civilizaciones existentes,⁽⁴⁰⁾ sin embargo, no es hasta principios del siglo pasado, con el perfeccionamiento en la técnica de anastomosis vascular lograda por el Dr. Carrel, además del uso de nuevos materiales de sutura, lo que le valió un nobel de Medicina en el año 1912, y el desarrollo de mecanismos supresores del sistema inmunológico en trasplantes de órganos y células hematopoyéticas entre sistemas inmunes no idénticos⁽³⁷⁾ lo que permitió el advenimiento de la era de los trasplantes con la efectividad que estos requerían.

Hoy, el trasplante de órganos, incluido el trasplante de riñón, es considerado un estándar de tratamiento para los pacientes con enfermedad renal crónica.⁽³⁸⁾

El primer trasplante en humanos conocido fue el realizado por el Dr. Yurii Voronoy en 1933, para lo que uso un órgano de un donante cadavérico con grupo sanguíneo B y el receptor era una mujer con falla renal por intoxicación con mercurio con grupo sanguíneo O;⁽³⁶⁾ el riñón de manera inicial produjo orina y luego de manera rápida y progresiva se tornó negro y perdió su función lo que se presume fue ocasionado por un rechazo temprano,⁽³⁷⁾ sin embargo, no fue sino hasta 1954, en Boston en el Peter Bent Brigham Hospital, que un equipo liderado por el Dr. Joseph Murray realizó el primer trasplante alogénico exitoso entre hermanos gemelos. Se realizó con la ayuda de la radiación corporal total más el uso de corticosteroides bloqueando de manera completa la respuesta inmunológica, con una excelente sobrevida, lo que proporcionó un ánimo adicional al grupo permitiéndoles en los meses posteriores trasplantar 11 individuos usando donantes tanto vivos como cadavéricos y reportando sobrevidas hasta de 5 meses con el injerto funcionando.

Desde la década de 1940 a la de 1950 la inmunología tuvo avances muy importantes, bajo la tutela de Owen con la caracterización de la memoria inmunológica y el descubrimiento de que en terneros gemelos no monocigotos que compartían la misma placenta, se permitía, durante la fase fetal, el intercambio de células hematopoyéticas, desarrollando tolerancia antigénica, evidenciada mediante tolerancia en injertos de piel trasplantados

entre ellos,⁽³⁷¹⁾ mientras que el Dr. Peter Medawar, profesor de zoología en Glasgow, quien ganaría también el Premio Nobel de Medicina en 1960, fue capaz de permitir la tolerancia inmunológica en ratones que eran expuestos a antígenos extraños in útero, ingresando en el estudio también del rechazo y generando las bases para el estudio de los inmunosupresores.⁽³⁹⁾

En 1958, un aloantígeno presente en los leucocitos humanos fue identificado y descrito de manera inicial como "MAC", luego denominado HLA A2 por Jean Dausset y Jon Van Rood, identificado mediante anticuerpos de mujeres multíparas o pacientes politransfundidos, que eran capaces de desarrollar una respuesta inmunológica en la mayoría, pero no en todos los casos, a los antígenos que eran expuestos, determinando así un sistema polimórfico de antígenos sobre los leucocitos humanos, lo que le valió un premio Nobel en 1980, junto con Snell and Baruch Benacerraf, predecesores en su trabajo de investigación.⁽⁴⁰⁾

La importancia del componente humoral en el rechazo hiperagudo (el cual se produce en los minutos siguientes al declampeo del órgano trasplantado, secundario a la presencia de anticuerpos preformados en el paciente receptor frente a antígenos HLA del donante⁽³⁾ fue enfatizada por Kissmeyer-Nielsen en 1966, quien describió los efectos deletéreos de los anticuerpos preformados en el injerto⁽⁴¹⁾ y en 1975 Lafferty y Cunningham describen la "hipótesis de las dos señales" demostrando la relación fisiopatológica entre las subclases de los linfocitos T: una primera señal humoral generada por la presentación antigénica a las células T Helper (CD4+) y una segunda señal humoral, las citoquinas (interleuquina 2, interferón, factor de necrosis tumoral alfa y beta) de estas células a las células T y B efectoras.⁽⁴⁾

A través de la vida, nuestro sistema inmune se encuentra expuesto a un sinnúmero de segmentos de patógenos que permiten el desarrollo de un gran repertorio de células T de memoria específica, que pueden reclutar de manera rápida elementos del sistema inmunológico para eliminar el organismo identificado como cuerpo extraño. Esta organización en la reactividad celular mediada por células T depende de una interacción exquisita entre el receptor de células T (TCR) y el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) detectando los péptidos derivados de patógenos bajo las directrices del principio restrictivo del CMH,⁽⁴³⁾ sin

embargo, dicho principio es eliminado por células T especializadas que son capaces de reaccionar directamente contra moléculas del CMH extrañas de un individuo no relacionado (alógeno) mediante la vía de la reactividad cruzada del TCR.⁽⁴⁸⁾

En los trasplantes de órganos sólidos en humanos, se requiere de una adecuada compatibilidad entre el sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) entre el donante y el receptor, además de un adecuado régimen inmunosupresor, con el fin de disminuir al máximo los efectos destructores del sistema inmunológico sobre el órgano recién trasplantado. De manera simultánea, existe una activación del sistema inmune adaptativo mediado por células T, quienes de manera directa o indirecta, son capaces de reconocer el HLA extraño, generando así una respuesta al estímulo antigénico, logrando ser cinéticamente rápida, fuerte y suficientemente eficiente, y capaz de amplificar de manera potencial el daño al injerto alógeno,⁽⁴⁵⁾ lo que se conoce como aloreconocimiento; sin embargo existen pocos estudios respecto de la compatibilidad entre donante/receptor en el HLA-G, a pesar de que este sea reconocido como una molécula presentadora de péptidos, como lo hacen moléculas clásicas del HLA.⁽⁴⁶⁾

Complejo mayor de histocompatibilidad (CMH)

El complejo mayor de Histocompatibilidad se describió en trasplantes de tejidos mucho antes de aclarar su estructura y las funciones de sus moléculas. En el humano se descubrió buscando moléculas de la superficie celular de los sujetos que fueran reconocidas como extrañas por otros sujetos, específicamente por anticuerpos definidos, estas moléculas se denominaron antígenos leucocitarios humanos (HLA).

Los loci del CMH contienen tres tipos de genes polimórficos del complejo, los genes de la clase I y de la clase II, que codifican dos grupos de proteínas homólogas, pero con estructuras diferentes, estos genes son los más polimórficos presentes en el genoma de cualquier mamífero. Los loci de la clase III del CMH se refieren a los genes que codifican moléculas diferentes a las moléculas que presentan péptidos; este término no se usa de manera habitual, por lo que en esta monografía nos referiremos exclusivamente a los genes de la clase I y clase II.

Estas variaciones en las moléculas del complejo, que son responsables del polimorfismo, se deben a la herencia de diferentes secuencias de ADN, así los aminoácidos polimórficos de las moléculas del CMH determinan la especificidad de la unión al péptido y del reconocimiento del antígeno por el linfocito T; de manera filogenética se ha considerado que dicho polimorfismo pudo haber evolucionado porque así se asegura que existan individuos capaces de enfrentarse a la diversidad de microbios, protegiendo a las poblaciones de las infecciones emergentes. Los genes del CMH se expresan de forma co-dominante en cada individuo, es decir, cada individuo expresa los alelos que hereda de cada uno de los progenitores, maximizando así, el número de moléculas del CMH disponibles para unirse a péptidos que puedan presentar a los linfocitos T.⁽³⁾

En los seres humanos, el CMH se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 y ocupa un gran segmento de ADN, que se extienden unas 3500 kilobases. Existen tres genes de la clase I del CMH denominados HLA-A, HLA-B, HLA-C que codifican tres tipos de moléculas del HLA con los mismos nombres, y existen tres loci de la clase II del CMH denominados HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR, los cuales son considerados como clásicos, sin embargo, existen otros no clásicos a los cuales no me referiré. Cada molécula de la clase II del complejo está compuesta por un heterodímero de polipéptidos a y b y cada locus del DP, DQ y DR contiene genes separados designados A o B, que codifican las cadenas a y b respectivamente en cada copia del cromosoma 6.

Las moléculas de clase I se expresan en casi todas las células nucleadas, mientras que las moléculas de clase II se expresan sólo en las células presentadoras de antígeno como son células dendríticas, linfocitos B, macrófagos y células endoteliales.

Estructura genética del HLA-G

El gen del HLA-G presenta una estructura que se asemeja a los genes del HLA clásico, con el desarrollo de proteínas de membrana y con los mismos dominios extracelulares del HLA clase I incluida su asociación con la β -2 microglobulina, sin embargo, su principal función no es la presentación antigénica.

Su estructura a nivel de exones e intrones no se encuentra adecuadamente definida, y por ende no existe un acuerdo de la localización exacta donde

inicia la transcripción del HLA-G, se presume que esta inicia 866 nucleótidos corriente arriba del ATG inicial, sin embargo dada la información contradictoria que se encuentra en la literatura es posible que se encuentren múltiples sitios de inicio de la transcripción dependiendo de la presencia de factores específicos.⁽⁸⁾

Expresión del HLA-G

El HLA G es expresado como una proteína soluble unida a membrana, esta expresión está especialmente restringida a la interfase materno fetal en el citotrofoblasto materno-fetal, en la placenta y en el amnios, sin embargo, se ha encontrado en adultos sanos en timo, córnea, células epiteliales bronquiales, páncreas y diferentes tipos de células como las progenitoras mesenquimales, precursores endoteliales y eritroides. Dicha proteína también se ha identificado en líquidos corporales como plasma, líquido cefalorraquídeo, líquido pleural y esperma.⁽³¹⁾

Sin embargo, el gen del HLA-G no se encuentra activo en todos los tejidos; su expresión se encuentra inducida por ciertas moléculas como progesterona,⁽¹⁾ y depende de la combinación de diferentes factores entre los que se cuentan factores de transcripción, miRNAs y factores ambientales.

Algunos factores secretados localmente en la placenta y por algunos tumores pueden modular la transcripción y la expresión de las proteínas del HLA-G en los trofoblastos y en las células sanguíneas mononucleares, de esta manera algunos factores de crecimiento y citoquinas pro o antiinflamatorias como IL-1 β , IL-10, IFN- α , - β , - γ , IFN- γ son capaces de regular de manera positiva la expresión génica de HLA-G,⁽⁴⁾ al igual que los glucocorticoides, β -estradiol, progesterona y prolactina, y se ha encontrado un efecto de regulación negativa en condiciones de hipoxia.⁽⁵⁾

En cuanto al miRNAs, se ha demostrado que sobre la familia compuesta por los miRNAs- 148a (miR-148a), miR-148b y miR-152, al modificar la región 3' se permite una regulación negativa con consecuencias funcionales evidenciadas en la Colestasis del embarazo, pre-eclampsia, al igual que en tumores renales, gástricos, pulmonares, de seno y colorrectales.⁽⁶⁾

Polimorfismo del HLA-G

El polimorfismo de la molécula HLA es el resultado de un largo proceso de evolución

a lo largo de miles de millones de años como consecuencia de la presión evolutiva ejercida por agentes infecciosos. Para generar este elevado polimorfismo, la molécula HLA ha utilizado diferentes mecanismos que contribuyen a formar nuevos alelos.

A diferencia del HLA clásico, el polimorfismo del gen del HLA-G es limitado, solamente se han encontrado 88 alelos que codifican para sólo 26 proteínas, y se han encontrado un total de 33 variaciones nucleotídicas, encontrando que G*01:05N (el cual presenta una delección de citosina en el exón 3) y G*01:13N (presenta un codón de parada en el exón 2) son considerados como "nulos".

Algunos son resultados de mutaciones puntuales y otros proceden de la combinación de secuencias completas entre diferentes alelos, bien mediante un proceso de recombinación génica o por conversión génica, según el cual una secuencia es reemplazada por otra semejante de un gen homólogo. La recombinación entre alelos del mismo locus parece ser el mecanismo más frecuentemente utilizado para la creación del polimorfismo y así, muchos alelos diferentes pueden proceder de procesos de recombinación repetidos a partir de un pequeño número de genes ancestrales. La existencia de este proceso evolutivo apoya que el polimorfismo es esencial para los antígenos de histocompatibilidad.

En la región genética del HLA-G pueden ocurrir variaciones a nivel genético producidas por sustituciones de bases o SNP (single nucleotide polymorphism) que pueden dar lugar a cambios en el tipo de aminoácido que constituye la proteína HLA-G o incluso delecciones que ocasionan un desplazamiento en la pauta de lectura.

La región promotora del HLA-G es única entre el resto de los HLA. Se han encontrado cerca de 30 SNP en esta región, en el extremo 5'UTR. Esta región está localizada 1.5 Kb antes del inicio de la transcripción del HLA-G.⁽²⁷⁾

La región promotora del HLA-G contiene múltiples elementos regulatorios cis, por lo tanto, los polimorfismos de esta región pueden afectar la unión de factores nucleares o factores de transcripción a la región regulatoria y al sitio de inicio de la transcripción, viéndose afectada la eficiencia en la regulación transcripcional del HLA-G y afecta los niveles de expresión de HLA-G soluble.

Existe un fuerte desequilibrio de enlace en

la zona del promotor del gen HLA-G. Debido a esto, es posible realizar una asociación entre un determinado haplotipo del HLA-G (que contiene múltiples SNP) y los abortos a repetición, entre otras patologías, incluida la mayor tasa de rechazo.⁽⁷⁾

También, se ha visto un fuerte desequilibrio de enlace entre los polimorfismos que ocurren en el promotor 5'UTR con las variantes de la región 3' UTR, las cuales se asocian con cambios en la estabilidad del ARNm.⁽²⁶⁾

Polimorfismos en el exón 1: el exón 1 codifica para el péptido líder (secuencia de aminoácidos implicados en el traslado de las proteínas) el cual tendrá importancia en la expresión y estabilidad del HLA-G. Estos cambios en el tipo de aminoácidos del péptido líder del HLA-G (residuos 3-11), podrían implicar fallos en el HLA-E.

Polimorfismos en el exón 2: el exón 2 codifica para el dominio $\alpha 1$ de la molécula de HLA-G. Se han detectado un elevado número de mutaciones en este exón. Algunas están muy conservadas evolutivamente y por ende se presume que ese locus es funcionalmente esencial. El codón 31 es responsable de formar la hendidura de presentación de antígenos y exhibe un mayor grado de variación en la secuencia de nucleótidos que el resto de las regiones, aunque algunas posiciones de esta región deben mantenerse conservadas. El polimorfismo del codón 31 define el alelo HLA-G*0103.

Otras variaciones en el exón 2, dominio $\alpha 1$, podrían tener repercusión en la funcionalidad de la proteína HLA-G. Los residuos 76-80 de este dominio interactúan con los receptores inhibidores KIR2DL4 de las células NK, llevando a cabo la función de inmunosupresión del HLA-G. Debido a ello, se piensa que esta zona concreta del exón 2 evolucionó hasta ser una región constante y sin polimorfismos.

Polimorfismos del exón 3: la mayoría de las mutaciones puntuales de la molécula de HLA-G en la población sana están descritos en el exón 3, que codifica para el dominio $\alpha 2$. A pesar de la elevada cantidad de variaciones encontradas, las que tienen más importancia en la transcripción, la conformación de la molécula HLA-G y su expresión superficial son:

- Codón 93: la sustitución de la tercera base (CAC por CAT) origina una sustitución sinónima de histidina por histidina.

- Las cisteínas de los codones 101 y 164

- Codón 107: ocurren varias sustituciones. Una de ellas es el cambio del codón GGA por CGA o AGA, con un cambio de glicina por arginina y afecta la unión del HLA-G al receptor TCR-CD8 de los linfocitos T.

- Codón 110: ocurre un cambio en la primera base del codón CTC por ATC, que provoca sustitución del aminoácido leucina por isoleucina. Este polimorfismo está muy conservado y no se afecta la estructura tridimensional, la polaridad del HLA-G ni las funciones de interacción con el sitio de unión al péptido o los receptores de los linfocitos T.

- Codón 130: ocurre una delección de una citosina en la posición 1597 que origina el alelo nulo HLA-G*0105N. La delección del alelo puede generar un codón stop en el codón 189 (GTG por TGA), en el exón 4, de manera que se crean isoformas incompletas y no hay secreción de la isoforma HLA-G1 o la soluble HLA-G5. Se sabe que la delección 1597C no afecta a otras isoformas unidas a membrana como las HLA-G2 y -G3 ni a las isoformas solubles HLA-G6 y -G7 ya que, por fraccionamiento alternativo, no tienen el exón 3, dominio $\alpha 2$, y no se ven afectadas por la delección ni por el corrimiento de aminoácidos. Estas isoformas truncadas son funcionales y pueden reemplazar en determinados aspectos a las isoformas completas del HLA-G. Pueden proteger del ataque de las células NK por interacción del dominio $\alpha 3$ con el receptor inhibidor ILT2 o por interacción del dominio $\alpha 1$ con el receptor inhibidor KIR2DL4 de las células NK.

Polimorfismos en el exón 4: el exón 4 codifica para el dominio $\alpha 3$, el cual es constante debido a las funciones de interacción con la $\beta 2$ microglobulina, a pesar de ser una zona muy funcional se han detectado cambios de bases que afectan al reconocimiento y unión del HLA-G al CD8 de los linfocitos T, generando nuevos alelos, como el caso del codón 258, con cambio de treonina por metionina y origina el alelo HLA-G*0105.

Polimorfismos en el exón 8 (región 3'UTR): la región 3'UTR contiene varios elementos reguladores, incluyendo señales de poliadenilación que regulan la expresión temporal y espacial de ARNm. Existen 8 posibles polimorfismos en esta región y tienen que ver con la estabilidad en la transcripción del HLA-G. Pueden afectar la unión de determinadas proteínas al ARNm como el metabolismo, estabilidad, procesamiento,

localización subcelular, control transcripcional y patrón de fraccionamiento del transcrito.

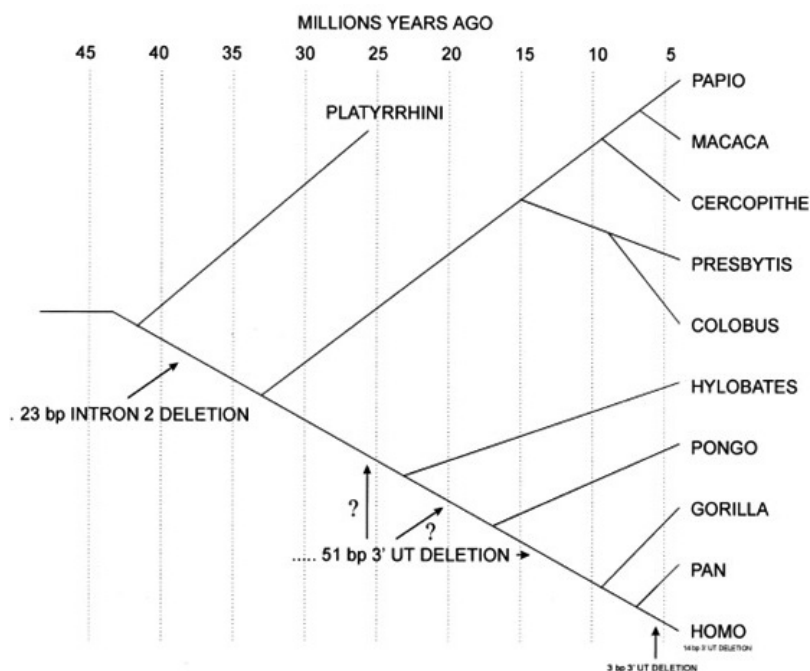
Además, basados en la base de datos del proyecto 1000 genomas, se determinó la mayor frecuencia a nivel global de las regiones codificantes del HLA-G siendo la más frecuente G*01:01 (60.9% de la población estudiada), seguida por G*01:04 (17.3%), G*01:05N (3.3%), G*01:06 (2.8%), G*01:03 (1.1%).⁽⁷⁾ Sin embargo, estas frecuencias también dependen de la distribución geográfica, encontrando por ejemplo, que el alelo G*01:05 se encuentra más frecuentemente en Irán,

India e Iraq, lo que presupone que se expresa en poblaciones con una alta carga de patógenos, lo que le permitirá una mejor defensa a nivel intrauterino a las infecciones.⁽¹⁰⁾

Evolución del gen de HLA-G

Dicho análisis se hace basado en las regiones no codificantes de los CMH-G entre humanos y otros primates, hallándose que la región 3'-UTR no se encuentra en otros primates, solamente en humanos, lo que implicaría que es un evento reciente en la evolución de las especies.⁽¹²⁾ (Figura. 3)

Figura 3. Evolución del HLA-G en humanos y primates



Castro *et al.*, 2000⁽¹⁰⁾

Por lo tanto, parece que la evolución ha trabajado para conservar la función del HLA-G manteniendo un alto grado de variaciones en las regiones reguladoras que pueden afectar la metilación del ADN y la unión de factores de transcripción, así como la estabilidad del ARNm del HLA-G y la unión de microARN. De esta manera, se habrían mantenido diferentes niveles de expresión de HLA-G de acuerdo con las necesidades inmunológicas de cada una de las especies.⁽¹⁾

Proteínas del HLA-G

La diversidad del HLA-G, no puede ser descrita basado en el número de sus isoformas, las cuales en muchos casos se parecen entre ellas,

como es el caso de HLA-G1 y HLA-G5. Tienen 9 aminoácidos con secuencias de anclaje en posición 2 (isoleucina o leucina), 3 (prolina) y 9 (leucina), aunque posiciones 2 y 9 son suficientes para un anclaje eficiente, sin embargo, no está claro como hacen las otras isoformas, HLA-G 2, 3, 6 y 7 para lograr una adecuada unión al péptido y al surco de unión.

Otra de las características importantes de la molécula de HLA-G es el dominio citoplasmático corto con un codón de parada prematuro en el exón 6, el cual puede remover potenciales señales de endocitosis, lo que explica una retención de moléculas de manera prolongada sobre la superficie celular, funcionando como un excelente mecanismo de control de calidad.

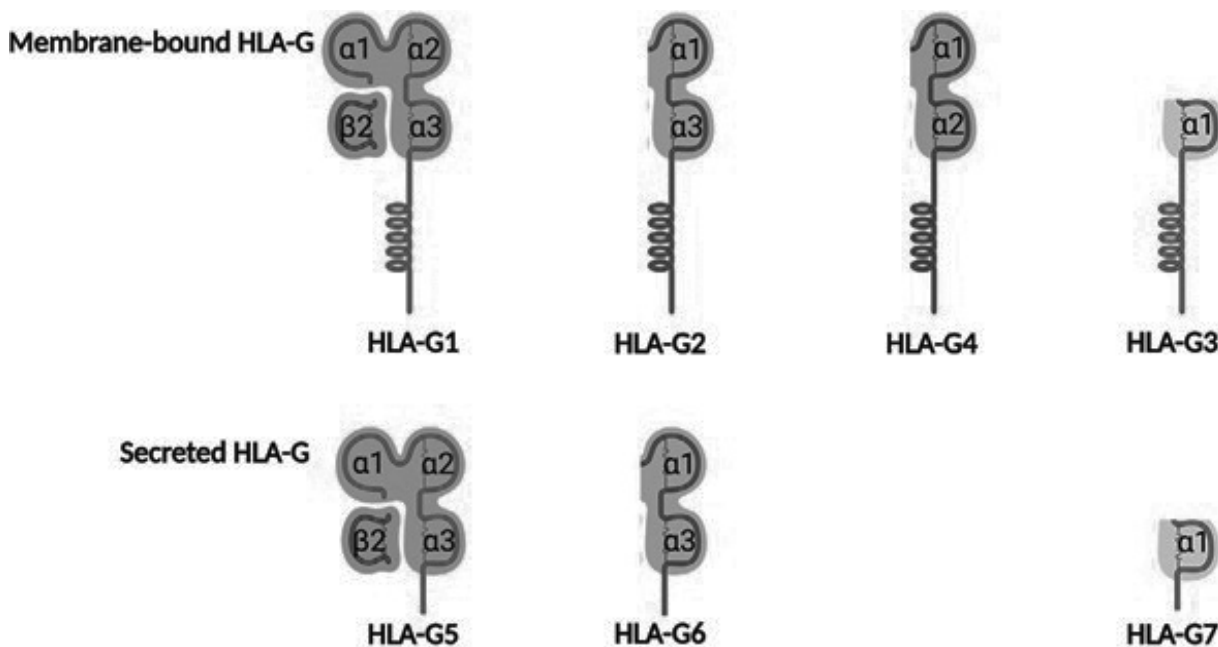
Isoformas del HLA-G

Todas las isoformas del HLA-G, tienen en común el dominio extracelular que media por su interacción con la molécula CD8, la protección de la citólisis por células T y NK.

La molécula HLA-G puede presentarse en 7

isoformas codificadas por splicing alternativo del m-RNA precursor, 4 de ellas son proteínas unidas a la membrana (HLA G1, G2, G3, G4) y otras 3 isoformas son proteínas solubles (HLA G5, G6 y G7).⁽²⁵⁾ (Figura 4)

Figura 4. Isoformas del HLA-G



Ashwin Ajitha, 2020⁽³³⁾

La isoforma HLA-G1 presenta los dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$ (asociados con $\beta 2$ Microglobulina) que codifica para el dominio extracelular, unidos al dominio transmembrana y un codón de parada en el exón 6. Los transcritos HLA-G2, G3 y G4 no incluyen el exón 3, exón 3 y 4 o exón 4 respectivamente, generando isoformas truncadas. Los mecanismos para generar las proteínas solubles alternas del HLA-G incluyen un codón de parada en el intrón 4 para las isoformas G5 y G6, mientras que G7 presenta un codón de parada en el intrón 2. La función primaria del HLA-G1 es actuar como inmunomodulador. Es reconocido por receptores ILT2, ILT4 y KIR2DL4 expresado en células mielomonocíticas, células T y dendríticas. Afecta la producción de citoquinas de los linfocitos grandes de la decidua en la respuesta TH1/TH2.

Las isoformas cortas de HLA-G2, G3 y G4, son producidas intracelularmente, retenidas en el retículo endoplásmico y no llegan a la superficie de la célula. Funcionan sólo para apoyar la expresión

de HLA-E y modulan la interacción con CD94/NKG2. La isoforma HLA-G5 se ha descrito en líquido amniótico, sueros de gestantes, pacientes con cáncer y trasplantados. HLA-G6 y G7 se presenta en sangre materna durante la gestación.

La presencia de moléculas de tipo soluble en plasma y líquido amniótico, en biopsia de tumores y en suero de pacientes trasplantados podría implicar que estas isoformas actúan como mecanismos de tolerancia inmune en el embarazo, en los trasplantes y en la progresión de tumores.

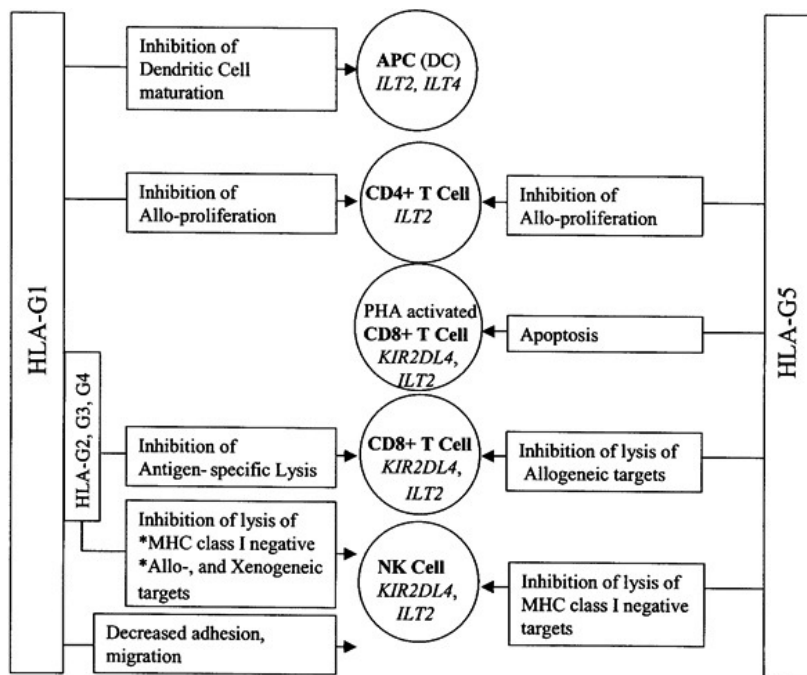
La mayoría de las células mieloides expresan G1 y G5, mientras que las células plasmáticas expresan principalmente G1. Esto explica la diferencia de expresión en la superficie celular e intracelular de HLA-G, ya que el anticuerpo monoclonal utilizado reconoce sólo isoformas G1 en la superficie y G5 intracelular.

Las moléculas solubles del HLA-G son secretadas por las vellosidades del citotrofoblasto y se han detectado niveles basales en suero materno

y líquido amniótico. Se le atribuyen funciones inmunosupresoras, modulando la liberación de citoquinas desde las células mononucleares deciduales, activando a los CD8+ e inhibiendo la proliferación de los CD4+. Regulan la capacidad invasiva del blastocisto y determinan la implantación del huevo.

El HLA-G5 puede ser blanco de la apoptosis de las CD8+ activas por la interacción con la molécula CD8. El HLA-G5 se expresa en la placenta, y tiene otras funciones como la de eliminar CD8 aloreactivos maternos de las células T en la interfase materno-fetal.⁽³¹⁾ (Figura 5)

Figura 5. Funciones de las isoformas



Freissa, LeMaoult, Moreau, *et al.*, 2003⁽³¹⁾

Receptores del HLA-G

Es conocido que los receptores del HLA-G incluyen receptores inhibidores ILT2 y ILT4, receptores no inhibidores CD8 y CD160 y el receptor KIR2DL4 del cual no se tiene clara su función en el HLA-G.

El ILT2 (Ig-like transcript 2), también conocido como CD85j y LILRB1, y el ILT4, también conocido como CD85d y LILRB2, son los principales receptores del HLA-G sobre células inmunes periféricas, de esta manera el ILT2 se expresa sobre monocitos, células dendríticas, células B y en algunas subclases de NK y células T, mientras que ILT4 se expresa exclusivamente en células de linaje mielomonocítico.

Existe una interacción específica selectiva por los receptores, así LILRB1 interactúa exclusivamente con las isoformas asociadas-b2m (HLA-G1 y HLA-G5), mientras que LILRB2 se asocia con las moléculas HLA-G no asociadas-b2m.⁽³³⁾

Tanto ILT2 como ILT4 contienen motivos de inhibición (ITIMs) en sus colas citoplasmáticas que inhiben la respuesta celular al reclutar fosfatasa como SHP-1. Estos además tienen 4 dominios similares a los de la inmunoglobulina en la región extracelular y de estos, dos dominios N-Terminal son responsables del reconocimiento del complejo mayor de histocompatibilidad clase I, al reconocer el dominio alfa 3 y beta 2 microglobulina del CMH.

Se ha considerado el KIR2DL4 como un receptor no clásico inhibitorio, este es expresado por las células NK en la decidua, pero es indetectable en las células NK en sangre periférica, por lo que se considera solamente importante en el contexto del embarazo.⁽¹¹⁾

Funciones del HLA-G

La primera función descrita fue la inhibición de las células NK en la decidua inhibiendo la

citólisis, protegiendo las células que expresaban HLA-G, al alterar la secreción de interferón gama y al permitir una subregulación de los receptores de quimioquinas.⁽¹⁾ El HLA-G inhibe la citólisis de las NK por 2 vías principales: directa e indirecta, mediante la inducción de señales inhibitorias. La vía directa consiste en la interacción con los receptores inhibitorios de las NK, denominados KIRs (killer inhibitory receptors); incluye a ILTLIRI (presentes en células NK, células mielomonocíticas, linfocitos T y B), ILT4/LIR2 (selectivamente expresados en monocitos, macrófagos, y células NK deciduales) y KIRDL4 (expresado en NK y linfocitos T), el mecanismo indirecto consiste en la interacción con el receptor CD94\NKG2 (miembro de la súper familia de las lecitinas C) del HLA-E (expresado en la superficie de las NK), que contiene un péptido derivado del HLA-G que inhibe la actividad de las NK

A nivel de las células T, Le Gal *et al.*,⁽²⁹⁾ fueron los primeros que mostraron que el HLA-G inhibe los linfocitos T citotóxicos. Se ha demostrado que puede inhibir la respuesta aloproliferativa de las células T CD4+ y la función citolítica de las células T CD8+, además induce un cambio en los perfiles de expresión de citoquinas hacia Th2 y la producción de TNFA, IFN- γ e IL-10, además de producir un bloqueo de la fase G1 del ciclo celular.⁽¹²⁾

En cuanto a las células B, el HLA-G inhibe la proliferación, diferenciación y secreción de anticuerpos, esta inhibición se produce al bloquear al paso G0/G1 en un contexto de un medio enriquecido con IL 10.⁽¹³⁾

A nivel de las células dendríticas, el HLA-G inhibe la estimulación de células T en alorespuesta, este es un hallazgo *in vitro*,⁽¹⁴⁾ sin embargo, *in vivo* se ha encontrado una alteración en la maduración de las DC.⁽¹⁵⁾

Otros estudios han reportado una inhibición en la sobrerregulación del HLA clase II y de moléculas coestimuladoras como el CD80 y CD86 en respuesta a señales de la activación. Sobre los neutrófilos, se ha encontrado una inhibición de la función fagocítica, al igual que la producción de radicales de oxígeno, inducido por los receptores ILT4 y los CD32a.

De esta manera el HLA-G no sólo inhibe las células efectoras sino también estimula las células reguladoras, así las células presentadoras de antígeno que expresan HLA-G1 en su

superficie, inducen la diferenciación de células T reguladoras⁽¹⁶⁾ mientras que el HLA-G5 induce per se la generación de células T reguladoras,⁽¹⁷⁾ sin embargo, el mecanismo exacto de dicho estímulo no es del todo claro.

Uno de los descubrimientos más importantes en los últimos años, es la identificación de las células dendríticas tolerogénicas denominadas DC-10;⁽¹⁸⁾ estas se encuentran presentes en sangre periférica, órganos linfoides secundarios, y la decidua durante el embarazo y se pueden inducir *in vitro* por monocitos en presencia de IL-10, logrando identificar la expresión de HLA-G en su superficie. El descubrimiento de DC-10 y de su modo de acción es de particular importancia en el campo de la investigación HLA-G porque complementa varios circuitos inmunomoduladores mediados por HLA-G y lo posicionan como una molécula clave en la generación de microambientes tolerogénicos, incluso los ya descritos.

HLA-G y trogocitosis

La trogocitosis corresponde a un mecanismo de transferencia intercelular de fragmentos de membrana y otras moléculas como mecanismo de comunicación intercelular. De esta manera se ha confirmado la transferencia de moléculas del HLA-G, haciéndola funcional en la célula receptora adquiriendo la capacidad inmunoreguladora ya descrita (Brown, y otros, 2012)

Funciones no inmunológicas del HLA-G

Entre las funciones no inmunes del HLA-G también se han descrito:⁽²⁾

- Coadyuvante en la implantación del embrión
- Proliferación y diferenciación de progenitores eritroides
- Diferenciación de osteoblastos
- Inhibición de angiogénesis

HLA-G y trasplante

En el año 2000 se realizó la primera demostración de la expresión del HLA-G en pacientes trasplantados de corazón,⁽²⁰⁾ hasta ahora más de 1.500 han sido analizados para la presencia de HLA-G en el órgano trasplantado, en suero y en células mononucleares en sangre periférica,⁽¹⁾ lo que ha permitido que algunos autores sugieran su efecto tolerogénico en el trasplante de órganos.⁽⁴⁶⁾

Clínicamente esta expresión se encuentra

relacionada con un menor número de episodios de rechazos agudos presentados, y una menor pérdida de injertos por rechazos crónicos.⁽³⁴⁾ En estudios de trasplantes renales, se concluyó que las incompatibilidades en el locus del HLA-G entre donante y receptor puede generar un mayor número de rechazos que cuando no existen dichas incompatibilidades, al igual que pacientes heterocigotos para alelos con variaciones nucleotídicas sinónimo/no sinónimo de HLA-G tienen una mayor probabilidad de desarrollar rechazos comparados con aquellos homocigotos para alelos S/S o NS/NS.⁽⁵⁰⁻⁵¹⁾

También se considera que la expresión de la molécula de HLA-G puede ser tiempo y espacio dependiente, de esta manera se considera que cuando la expresión se presenta de manera temprana e in situ, es decir, localizada en células del injerto, el HLA-G puede asumir un rol protector frente a la alorespuesta, mientras que, si su expresión es tardía, esta puede ser secundaria a un proceso de auto regulación frente a un evento inflamatorio que en muchos casos puede ser el rechazo.

En un estudio reciente, Durmanova demostró, en 69 receptores de trasplante renal con función estable del aloinjerto, valores significativamente altos del sHLA-G en carriers homocigotos +3,010GG, +3,142CC, +3,187GG and +3,196CC comparados con aquellos receptores con rechazos agudos⁽⁴⁸⁾ lo que demuestra que la expresión de HLA-G en el tejido y en sangre periférica, debería ser considerado un marcador predictivo frente a la tolerancia del injerto, y debería ser monitoreado de manera permanente para evaluar la aceptación del órgano con el fin de modular el manejo inmunosupresor; esto permitiría una aplicabilidad del área investigativa a la práctica clínica.

Algunos mecanismos cuentan para la expresión del HLA-G en pacientes trasplantados, entre estos se pueden incluir factores genéticos, factores micro ambientales como por ejemplo citoquinas, factores de crecimiento, hormonas, lesión isquemia/reperfusión, y el mismo manejo inmunosupresor en sí, tal y como lo demuestra Bahri, que logra identificar que los pacientes que recibieron belatacept, una molécula que se une a las moléculas co-estimuladoras CD80 y cD86 sobre las células presentadoras de antígeno, inhibiendo de esta manera la activación de linfocitos T, tenían niveles más elevados en plasma del HLA-G, al

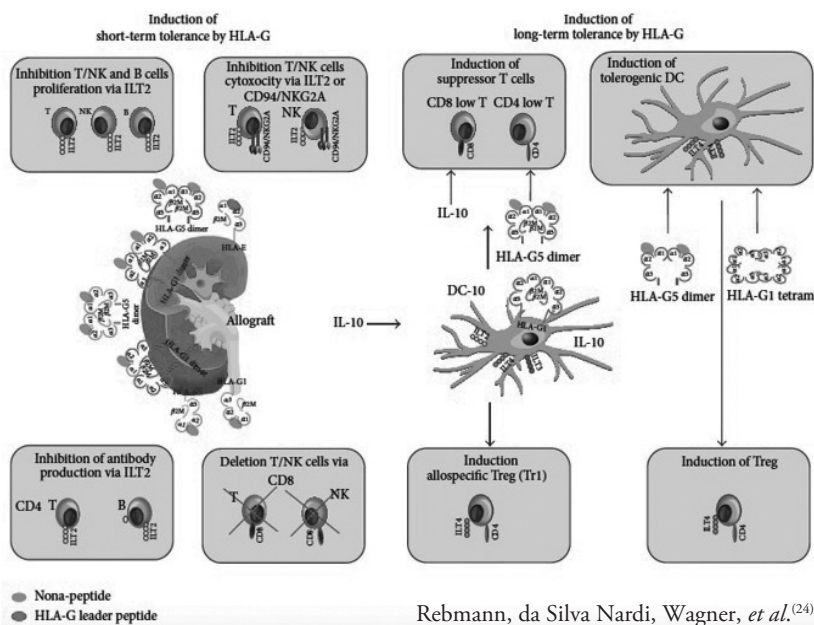
compararlos con los pacientes que recibieron un esquema usual con anticalcineurínicos, presentando además una menor tasa de rechazos agudos y crónicos.⁽²¹⁾ Las células identificadas como las responsables de la producción de HLA-G fueron las células dendríticas. En dicho estudio también se demuestra que a pesar de que el HLA-G está regulado por la progesterona, el uso de glucocorticoides en dosis bajas, como es el caso de los esquemas de mantenimiento en la inmunosupresión, no afecta la expresión del HLA-G.

También se encontró una expresión mayor del HLA-G en pacientes que recibieron manejo con everolimus, un mTOR, comparados con quienes recibieron ácido micofenólico,⁽²²⁾ y el manejo con anticalcineurínicos no pareciera afectar la expresión del HLA-G.

En cuanto al polimorfismo en las regiones codificantes, se encontró un mayor riesgo para desarrollar enfermedad renal crónica y a su vez para desarrollar rechazos luego del trasplante cuando se expresaban los alelos HLAG*01:01:01:03, HLA-G*01:01:02, HLA-G*01:06, y HLA-G*01:05N, y cuando existía expresión de los alelos HLA-G*01:01:01:01 y HLA-G*01:04:01 existía un efecto protector (Misra, y otros, 2014). Otro estudio encontró que al comparar las isoformas solubles con las unidas a membrana, demostró que unos niveles bajos de isoformas solubles (G5) y niveles altos de isoformas unidas a membrana (G1 y G3) se asocian con episodios más altos de rechazo agudo en trasplante renal.⁽³⁵⁾

El rol del HLA-G en la protección frente a los rechazos depende de ILT2 y ILT4, las consecuencias funcionales de las interacciones entre HLA-G y sus receptores incluye la inhibición de la actividad citotóxica de las células T CD8+ y las células NK, al igual que la disminución en la proliferación como alorespuesta de las células T CD4+ y progresión del ciclo celular de células T en general, y una alteración en la maduración de células presentadoras de antígeno, pero además juega un papel fundamental en la inducción de tolerancia al estimular la producción de Células T y células dendríticas reguladoras (**Figura 6**).⁽²⁴⁾ Además, se ha encontrado una asociación positiva con la producción de una alta población de células T reguladoras CD3+ CD4 bajo FOXP3.⁽³³⁾ In vitro se ha demostrado una producción adecuada de células reguladoras.^(1, 30)

Figura 6. Inducción de tolerancia a corto y largo plazo por el HLA-G



En cuanto a las células B, se encuentra un efecto inhibitorio en la proliferación y diferenciación en la alorespuesta, sumado a una menor secreción de IgG, IgA, e IgM.⁽¹³⁾

Así, algunos autores concluyen que el polimorfismo en el HLA-G del donante es de vital importancia para la susceptibilidad frente a rechazos agudos en trasplante renal y sugieren que los genotipos 14-bp INS/INS y +3,142GG pueden ser protectores para eventos de alorespuesta.⁽⁴⁹⁾

Perspectivas

En estudios recientes, se han logrado sintetizar dos moléculas similares al HLA-G, que presuponen pueden ayudar en el proceso de tolerogenicidad de los trasplantes de órganos sólidos. Estas moléculas pueden ser el dominio alfa 3 del HLA-G, solo o en combinación con el dominio alfa 1. Ambos tipos de péptidos son reconocidos por el receptor ILT4, pero solo la unión de los dos péptidos, tanto in vitro como in vivo ha tenido una respuesta funcional positiva.⁽³⁰⁾

Otra aproximación que parece atractiva es la combinación del HLA-G con células estromales mesenquimales pluripotenciales que producen una acción sinérgica entre los dos mecanismos tolerogénicos.

Es llamativa la capacidad que tiene el HLA-G para permitir el desarrollo de tolerancia durante el embarazo, proceso que ha asegurado la supervivencia de la especie a través de los años,

dadas las características inmunológicas que hasta ahora se vislumbran, y es muy llamativa la utilidad que estos mecanismos pudieran aportar al proceso de aloreconocimiento en los trasplantes, pudiendo generar tolerancia inmunológica, asegurando la sobrevivencia de los injertos, con unos niveles bajos de inmunosupresores, limitando al máximo las complicaciones de estos.

Es por esto, que el HLA-G se ha convertido en un factor de estudio en la tolerogénesis de los trasplantes y también puede tener un factor importante como biomarcador. Esperamos que se sigan desarrollando métodos que permitan una mejor identificación de este proceso, y el desarrollo de procedimientos aplicables in vivo, con el fin de mejorar la sobrevivencia del injerto y a la vez, la calidad de vida de los transplantados, disminuyendo las complicaciones inherentes al manejo inmunosupresor.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Carosella ED, Rouas-Freiss N, Tronik-Le Roux D, Moreau P, LeMaout J. HLA-G: An Immune Checkpoint Molecule. *Adv Immunol.* 2015;127:33-144. doi: 10.1016/bs.ai.2015.04.001.
- 2) Hviid TV. HLA-G in human reproduction: aspects of genetics, function and pregnancy complications. *Hum Reprod Update.* 2006;12(3):209-32. doi: 10.1093/humupd/dmi048.
- 3) Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and*

- molecular immunology*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders, 2015. 535 p.
- 4) Moreau P, Flajollet S, Carosella ED. Non-classical transcriptional regulation of HLA-G: an update. *J Cell Mol Med*. 2009;13(9B):2973-89. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00800.x.
 - 5) Mouillot G, Marcou C, Zidi I, Guillard C, Sangrouber D, Carosella ED, *et al*. Hypoxia modulates HLA-G gene expression in tumor cells. *Hum Immunol*. 2007;68(4):277-85. doi: 10.1016/j.humimm.2006.10.016.
 - 6) Yang JS, Li BJ, Lu HW, Chen Y, Lu C, Zhu RX, *et al*. Serum miR-152, miR-148a, miR-148b, and miR-21 as novel biomarkers in non-small cell lung cancer screening. *Tumour Biol*. 2015;36(4):3035-42. doi: 10.1007/s13277-014-2938-1.
 - 7) Castelli EC, Ramalho J, Porto IO, Lima TH, Felício LP, Sabbagh A, *et al*. Insights into HLA-G genetics provided by worldwide haplotype diversity. *Front Immunol*. 2014;5:476. doi: 10.3389/fimmu.2014.00476.
 - 8) Jassem RM, Shani WS, Loisel DA, Sharief M, Billstrand C, Ober C. HLA-G polymorphisms and soluble HLA-G protein levels in women with recurrent pregnancy loss from Basrah province in Iraq. *Hum Immunol*. 2012;73(8):811-7. doi: 10.1016/j.humimm.2012.05.009.
 - 9) Donadi EA, Castelli EC, Arnaiz-Villena A, Roger M, Rey D, Moreau P. Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68(3):369-95. doi: 10.1007/s00018-010-0580-7.
 - 10) Castro MJ, Morales P, Martínez-Laso J, Allende L, Rojo-Amigo R, González-Hevilla M, *et al*. Evolution of MHC-G in humans and primates based on three new 3'UT polymorphisms. *Hum Immunol*. 2000;61(11):1157-63. doi: 10.1016/s0198-8859(00)00188-9.
 - 11) Le Page ME, Goodridge JP, John E, Christiansen FT, Witt CS. Killer Ig-like receptor 2DL4 does not mediate NK cell IFN- γ responses to soluble HLA-G preparations. *J Immunol*. 2014;192(2):732-40. doi: 10.4049/jimmunol.1301748.
 - 12) Bahri R, Hirsch F, Josse A, Rouas-Freiss N, Bidere N, Vasquez A, *et al*. Soluble HLA-G inhibits cell cycle progression in human alloreactive T lymphocytes. *J Immunol*. 2006;176(3):1331-9. doi: 10.4049/jimmunol.176.3.1331.
 - 13) Naji A, Menier C, Morandi F, Agaugué S, Maki G, Ferretti E, *et al*. Binding of HLA-G to ITIM-bearing Ig-like transcript 2 receptor suppresses B cell responses. *J Immunol*. 2014;192(4):1536-46. doi: 10.4049/jimmunol.1300438.
 - 14) Apps R, Gardner L, Sharkey AM, Holmes N, Moffett A. A homodimeric complex of HLA-G on normal trophoblast cells modulates antigen-presenting cells via LILRB1. *Eur J Immunol*. 2007;37(7):1924-37. doi: 10.1002/eji.200737089.
 - 15) Liang S, Baibakov B, Horuzsko A. HLA-G inhibits the functions of murine dendritic cells via the PIR-B immune inhibitory receptor. *Eur J Immunol*. 2002;32(9):2418-26. doi: 10.1002/1521-4141(200209)32:9<2418::AID-IMMU2418>3.0.CO;2-L.
 - 16) LeMaout J, Krawice-Radanne I, Dausset J, Carosella ED. HLA-G1-expressing antigen-presenting cells induce immunosuppressive CD4+ T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(18):7064-9. doi: 10.1073/pnas.0401922101.
 - 17) Le Rond S, Azéma C, Krawice-Radanne I, Durrbach A, Guettier C, Carosella ED, *et al*. Evidence to support the role of HLA-G5 in allograft acceptance through induction of immunosuppressive/ regulatory T cells. *J Immunol*. 2006;176(5):3266-76. doi: 10.4049/jimmunol.176.5.3266.
 - 18) Amodio G, Comi M, Tomasoni D, Gianolini ME, Rizzo R, LeMaout J, *et al*. HLA-G expression levels influence the tolerogenic activity of human DC-10. *Haematologica*. 2015;100(4):548-57. doi: 10.3324/haematol.2014.113803.
 - 19) Brown R, Kabani K, Favaloro J, Yang S, Ho PJ, Gibson J, *et al*. CD86+ or HLA-G+ can be transferred via trogocytosis from myeloma cells to T cells and are associated with poor prognosis. *Blood*. 2012;120(10):2055-63. doi: 10.1182/blood-2012-03-416792.
 - 20) Lila N, Carpentier A, Amrein C, Khalil-Daher I, Dausset J, Carosella ED. Implication of HLA-G molecule in heart-graft acceptance. *Lancet*. 2000;355(9221):2138. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02386-2.
 - 21) Bahri R, Naji A, Menier C, Charpentier B, Carosella ED, Rouas-Freiss N, *et al*. Dendritic cells secrete the immunosuppressive HLA-G molecule upon CTLA4-Ig treatment: implication in human renal transplant acceptance. *J Immunol*. 2009;183(11):7054-62. doi: 10.4049/jimmunol.0803054.
 - 22) Sheshgiri R, Gustafsson F, Sheedy J, Rao V, Ross HJ, Delgado DH. Everolimus but not mycophenolate mofetil therapy is associated with soluble HLA-G expression in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*. 2009;28(11):1193-7. doi: 10.1016/j.healun.2009.07.009.
 - 23) Misra MK, Pandey SK, Kapoor R, Sharma RK, Kapoor R, Prakash S, *et al*. HLA-G gene expression

- influenced at allelic level in association with end stage renal disease and acute allograft rejection. *Hum Immunol.* 2014;75(8):833-9. doi: 10.1016/j.humimm.2014.06.005.
- 24) Rebmann V, da Silva Nardi F, Wagner B, Horn PA. HLA-G as a tolerogenic molecule in transplantation and pregnancy. *J Immunol Res.* 2014;2014:297073. doi: 10.1155/2014/297073.
- 25) Capittini C, Bergamaschi P, Sachetto S, Truglio M, Viola M, Marchesi A, *et al.* The plasma levels of soluble HLA-G molecules correlate directly with CD34+ cell concentration and HLA-G 14bp insertion/deletion polymorphism in cord blood donors. *Blood Transfus.* 2014;12(Suppl 1):s361-6. doi: 10.2450/2012.0144-12.
- 26) Jacqueline Macedo Pereira J. Molécula HLA-G y su importancia en la inmunorregulación de la unidad feto-materna: aplicaciones en inmunoterapia celular [Tesis]. Universidad Complutense de Madrid, 2015. Disponible en: <<https://eprints.ucm.es/id/eprint/38900/>> (consulta:).
- 27) Cervera I, Herraiz MA, Peñaloza J, Barbolla ML, Jurado ML, Macedo J, *et al.* Human leukocyte antigen-G allele polymorphisms have evolved following three different evolutionary lineages based on intron sequences. *Hum Immunol.* 2010;71(11):1109-15. doi: 10.1016/j.humimm.2010.07.003.
- 28) Rincón V, Manrique E. HLA-G: Su importancia inmunológica. *Nova;* 2006;4(5):91-9. doi: 10.22490/24629448.352.
- 29) Le Gal FA, Riteau B, Sedlik C, Khalil-Daher I, Menier C, Dausset J, *et al.* HLA-G-mediated inhibition of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes. *Int Immunol.* 1999;11(8):1351-6. doi: 10.1093/intimm/11.8.1351.
- 30) LeMaoult J, Daouya M, Wu J, Loustau M, Horuzsko A, Carosella ED. Synthetic HLA-G proteins for therapeutic use in transplantation. *FASEB J.* 2013;27(9):3643-51. doi: 10.1096/fj.13-228247.
- 31) Rouas-Freiss N, LeMaoult J, Moreau P, Dausset J, Carosella ED. HLA-G in transplantation: a relevant molecule for inhibition of graft rejection? *Am J Transplant.* 2003;3(1):11-6. doi: 10.1034/j.1600-6143.2003.30103.x.
- 32) Ferreira LMR, Meissner TB, Tilburgs T, Strominger JL. HLA-G: at the interface of maternal-fetal tolerance. *Trends Immunol.* 2017;38(4):272-86. doi: 10.1016/j.it.2017.01.009.
- 33) Ajith A, Portik-Dobos V, Horuzsko DD, Kapoor R, Mulloy LL, *et al.* HLA-G and humanized mouse models as a novel therapeutic approach in transplantation. *Hum Immunol.* 2020;81(4):178-85. doi: 10.1016/j.humimm.2020.02.006.
- 34) Baştürk B, Karakayali F, Emiroğlu R, Sözer O, Haberal A, Bal D, *et al.* Human leukocyte antigen-G, a new parameter in the follow-up of liver transplantation. *Transplant Proc.* 2006;38(2):571-4. doi: 10.1016/j.transproceed.2005.12.108.
- 35) Ezeakile M, Portik-Dobos V, Wu J, Horuzsko DD, Kapoor R, Jagadeesan M, *et al.* HLA-G dimers in the prolongation of kidney allograft survival. *J Immunol Res.* 2014;2014:153981. doi: 10.1155/2014/153981.
- 36) Shrestha B, Haylor J, Raftery A. Historical perspectives in kidney transplantation: an updated review. *Prog Transplant.* 2015;25(1):64-9, 76. doi: 10.7182/pit2015789.
- 37) Sass DA, Doyle AM. Liver and kidney transplantation: a half-century historical perspective. *Med Clin North Am.* 2016;100(3):435-48. doi: 10.1016/j.mcna.2015.12.001.
- 38) Becker LE, Süsal C, Morath C. Kidney transplantation across HLA and ABO antibody barriers. *Curr Opin Organ Transplant.* 2013;18(4):445-54. doi: 10.1097/MOT.0b013e3283636c20.
- 39) Billingham R, Brent L, Medawar PB. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature.* 1953;172(4379):603-6. doi: 10.1038/172603a0.
- 40) Thorsby E. A short history of HLA. *Tissue Antigens.* 2009;74(2):101-16. doi: 10.1111/j.1399-0039.2009.01291.x.
- 41) Kissmeyer-Nielsen F, Olsen S, Petersen VP, Fjeldborg O. Hyperacute rejection of kidney allografts, associated with pre-existing humoral antibodies against donor cells. *Lancet.* 1966;2(7465):662-5. doi: 10.1016/s0140-6736(66)92829-7.
- 42) Lafferty KJ, Cunningham AJ. A new analysis of allogeneic interactions. *Aust J Exp Biol Med Sci.* 1975;53(1):27-42. doi: 10.1038/icb.1975.3.
- 43) Zinkernagel RM, Doherty PC. Immunological surveillance against altered self components by sensitised T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *Nature.* 1974;251(5475):547-8. doi: 10.1038/251547a0.
- 44) Rowntree LC, Nguyen TH, Gras S, Kotsimbos TC, Mifsud NA. Deciphering the clinical relevance of allohuman leukocyte antigen cross-reactivity in mediating alloimmunity following transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2016;21(1):29-39. doi: 10.1097/MOT.0000000000000264.
- 45) Adams AB, Williams MA, Jones TR, Shirasugi N, Durham MM, Kaech SM, *et al.* Heterologous immunity provides a potent barrier to transplantation tolerance. *J Clin Invest.* 2003;111(12):1887-95. doi: 10.1172/JCI17477.

- 46) Arnaiz-Villena A, Juárez I, Suarez-Trujillo F, López-Nares A, Vaquero C, Palacio-Gruber J, *et al.* HLA-G: function, polymorphisms and pathology. *Int J Immunogenet.* 2021;48(2):172-192. doi: 10.1111/iji.12513.
- 47) Pirri A, Contieri FC, Benvenuto R, Bicalho Mda G. A study of HLA-G polymorphism and linkage disequilibrium in renal transplant patients and their donors. *Transpl Immunol.* 2009;20(3):143-9. doi: 10.1016/j.trim.2008.09.012.
- 48) Durmanova V, Bandzuchova H, Zilinska Z, Tirpakova J, Kuba D, Buc M, *et al.* Association of HLA-G polymorphisms in the 3'UTR region and soluble HLA-G with kidney graft outcome. *Immunol Invest.* 2019;48(6):644-58. doi: 10.1080/08820139.2019.1610888.
- 49) Janssen M, Thaiss F, Nashan B, Koch M, Thude H. Donor derived HLA-G polymorphisms have a significant impact on acute rejection in kidney transplantation. *Hum Immunol.* 2019;80(3):176-83. doi: 10.1016/j.humimm.2018.12.011.