

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

**E.N.E.P. - ZARAGOZA**



**EFFECTO DE LAS HEMOTRANSFUSIONES EN LA SOBREVIVENCIA DE ALOINJERTOS EN UN MODELO DE RATAS**

**T E S I S**

Que Para Obtener el Título de  
**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P r e s e n t a n  
**FLORES MARTINEZ HUGO**  
**TRUJILLO VARELA A. RAMIRO**

**Junio de 1984**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**EFFECTO DE LAS HEMOTRANSFUSIONES EN LA SOBREVIVENCIA**

**DE ALOINJERTOS EN UN MODELO DE RATAS.**

**AREA ESPECIFICA DEL PROYECTO:**

**INMUNOLOGIA**

**PERSONAS QUE PARTICIPAN:**

**ALUMNOS: FLORES MARTINEZ HUGO.**

**TRUJILLO VARELA ANDRES RAMIRO.**

**ASESOR: MARROQUIN SEGURA RUBEN.**

## C O N T E N I D O

- I. INTRODUCCION.
- II. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.
- III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.
- IV. OBJETIVOS.
- V. HIPOTESIS.
- VI. MATERIAL Y METODOS.
- VII. RESULTADOS.
- VIII. DISCUSION Y CONCLUSIONES.
- IX. BIBLIOGRAFIA.
- X. APENDICE.

# I

## INTRODUCCION.

### A. DATOS HISTORICOS (1)

La idea de trasplantar o sustituir órganos enfermos por otros sa nos, en seres humanos o en animales, no es reciente, y ha despertado la imaginación del hombre durante muchos siglos. Hay menciones hechas en la mitología griega de trasplantes de órganos de animales al hombre. Durante el renacimiento Gaspare Tagliacozzi, efectúa trasplantes de piel de animales al hombre con el fin de corregir defectos de nariz. En 1804 Baronio, realiza trasplantes de piel entre animales de igual y de diferentes especies. En 1878 varios experimentos en animales, entre los que se cuentan los realizados por Paul Bert, en trasplantes de piel, reconocen diferentes comportamientos entre injertos realizados en animales de una misma especie (aloinjertos), de diferentes especies (xeno injertos) y dentro del mismo animal (autoinjerto), no excluyendo la posibilidad de aplicación en seres humanos. Shone en 1912 fué probablemente el primero en proponer que los trasplantes son usualmente un proceso sin éxito, diciendo que los fenómenos que ocurren en el rechazo de estos, son de algún tipo de respuesta inmune. En 1872 Power y en 1918 Williamson, realizan trasplantes de cornea y riñón respectivamente, teniendo poco éxito. A principios del siglo actual, son planteadas dos teorías que tratan de

explicar la reacción hacia el órgano transplantado: la primera en 1906 por Paul Ehrlich, al hacer transplantes de tumores de ratones a ratas, encuentra que se necesita cierto tiempo para que los tumores mueran en consecuencia postula que en los tejidos hay cierta sustancia que mantiene vivo y en crecimiento el tejido transplantado, pero que al agotarse se termina también la protección. La segunda teoría fue propuesta por Bashford, Murray y Haaland en 1908 y por Russell en 1912, ya que al hacer transplantes de tumores de ratones a ratas, encontraron que son destruidos en un tiempo de 9-11 días y que si se hacía un segundo transplante la destrucción se presentaba en 3-4 días, por lo que concluyen que durante el primer transplante se monta una respuesta inmune en contra del tumor, que ocasiona que un segundo transplante del mismo fuera destruido en menos tiempo. En 1912 Murphy y Rous, y en 1920 Marine y Manley, concluyen de sus experimentos que la respuesta de rechazo a los órganos transplantados es debida a las células linfoides.

## B. LA COMPATIBILIDAD EN EL TRANSPLANTE

### a. Antígenos de histocompatibilidad (HLA)

En la actualidad los problemas técnicos y quirúrgicos en el transplante de órganos, no son los más importantes, siendo todavía el mayor problema el rechazo de los mismos para el receptor, condu-

ciendo esto inevitablemente a la destrucción de los órganos. La respuesta que monta el receptor en contra del órgano donado es de tipo inmunitario y principalmente está dirigida en contra de los HLA extraños del donador. Sabemos que si el donador de un riñón es idéntico a su receptor en los HLA, el resultado del trasplante es muy bueno, con tasa de más del 90% de supervivencia y funcionando hasta 10 años, y que los trasplantes entre personas que solo comparten un haplotipo de los HLA, no es tan bueno el resultado del trasplante, siendo la tasa de 70-80% de supervivencia y funcionando de 1 a 2 años (2,3). Los HLA son glucoproteínas cuya codificación corresponden a los genes de los locus A, B, C, D y Dr, presentes en un pequeño segmento del cromosoma 6 en el humano, denominado complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) (locus K, D e I del H-2 en el cromosoma 17 del ratón) (4,5,6,7). Los productos de los locus A, B, C (HLA-ABC) (locus D y K en el ratón) tienen un peso molecular de 45 000 daltones, se encuentran prácticamente en la membrana celular de todos los tejidos, con excepción de los espermatozoides, e íntimamente ligados a un péptido de peso molecular de 12 000 daltones, llamado microglobulina B-2 (8). Los antígenos HLA-ABC tienen la capacidad de desencadenar la producción de anticuerpos en un individuo no compatible. Para determinar la presencia de alguno de estos antígenos en algún individuo, se emplean anticuerpos específicos,

los cuales en presencia del antígeno específico y de complemento, causan la muerte de la célula que contiene al antígeno. Debido a lo anteriormente señalado a los antígenos HLA-ABC se les conoce como serológicamente definidos (SD) (6).

Los productos de los locus D y Dr (HLA-DDr) (locus I del ratón - que codifica para los antígenos llamados Ia) tienen un peso molecular entre 25 000 y 30 000 daltones, se encuentran presentes predominantemente en la membrana de los linfocitos B, macrófagos, - espermatozoides, células de la epidermis y en algunos linfocitos T (que son los predominantemente activados por la concanavalina A), a estos antígenos se les conoce como definidos por linfocitos (DL) (4,7).

En los últimos años los productos del CMH han despertado gran interés, se ha encontrado que no solamente tiene gran importancia - al codificar los HLA responsables del rechazo de los trasplantes, sino que también en muchos otros aspectos de la inmunología (algunos de los cuales también intervienen en el rechazo de trasplantes), entre los cuales se mencionan los siguientes: a).- Cooperación entre macrófagos, linfocitos T y linfocitos B durante la producción de anticuerpos; se dice que genes de la región del CMH codifican para productos que se encuentran en la membrana de estas



células y que son necesarios en su cooperación, b).- cooperación entre linfocitos T-T, durante la activación de linfocitos T citotóxicos (LTCs); el CMH codifica para productos en la membrana de los linfocitos T, que son necesarios para que los linfocitos T - auxiliares (LTA) activen los LTCs, c).- destrucción de células infectadas por virus; para que haya destrucción de estas células, se necesita que el LTCs identifique tanto el antígeno viral como el producto codificado por el CMH, ya sea reconociéndolo por separado o reconociendo un determinante antigénico nuevo formado por las partes mencionadas, d).- codificación para los componentes del complemento C2 y C4, y del factor proactivador B de la vía alterna del complemento, e).- y por último se dice que el CMH codifica para la producción de un factor llamado de efecto alogénico, producido por los linfocitos T y B, como respuesta a estimulación con mitógenos o células alogénicas, y que es capaz de actuar sobre las células B, de tal manera que éstas adquieren la capacidad de producir anticuerpos contra varios antígenos (4,7).

b. Sistema ABO sanguíneo

Los antígenos del sistema ABO son pequeños oligosacáridos, que - están ligados a una larga cadena peptídica, sobre la membrana celular. Debido a que los antígenos ABO están presentes sobre todas las células del cuerpo, y los anticuerpos anti-A y anti-B ocurren en los sueros de las personas que carecen de estos antígenos, es-

tos anticuerpos pueden provocar también un rechazo de órganos, - cuando el transplante se efectúa entre personas ABO incompatibles (24, 18).

C. RESPUESTA INMUNE DE RECHAZO EN EL TRANSPLANTE.

a. Respuesta inmune celular.

La respuesta inmune de rechazo hacia el órgano incompatible, tiene componentes humorales y celulares. La respuesta de rechazo celular está asociada con el desenvolvimiento de hipersensibilidad tardía y generación de LTCs (4,6,9). Las células que inicialmente infiltran el órgano rechazado son mononucleares, principalmente - linfocitos T. Del total de estos linfocitos, solamente 1/5 parte son específicamente sensibilizados; los LTA son los primeros en - aparecer, se sensibilizan como respuesta al reconocimiento de los HLA DL extraños, los LTCs aparecen inmediatamente después, como - respuesta al reconocimiento de los HLA SD extraños, necesitando - además la cooperación de los LTA para su activación (4,6,9,10). - Los LTCs reconocen los HLA SD extraños, produciendo daño al órgano directamente (4,6,9,10,12). Tanto los LTA como los LTCs, pueden producir mediadores solubles (linfocinas), como el factor inhibidor de la migración de los macrófagos y leucocitos polimorfonucleares, factores quimiotácticos, factores blastógenos, factor de - -

transferencia, linfotoxinas, amplificando la respuesta inmune de rechazo y en consecuencia el daño al órgano transplantado (10,11).

b. Respuesta inmune humoral.

La respuesta inmune humoral está dada por la formación de anticuerpos en contra de determinantes antigénicos del órgano donado. En la respuesta de rechazo a un primer injerto, los linfocitos B sensibilizados aparecen en las etapas finales del rechazo (del total de linfocitos B la mayoría son sensibilizados) (9,10). Los linfocitos B sensibilizados son producidos como respuesta al reconocimiento de los HLA SD extraños. Estos linfocitos producen anticuerpos que intervienen en la destrucción del órgano, por medio de la activación del complemento o por medio de células citotóxicas dependientes de anticuerpos. La respuesta humoral tiene gran importancia en el rechazo de un segundo trasplante del mismo donador, protagonizando el llamado rechazo hiperagudo, proceso que ocurre en un menor período de tiempo y con menor participación de inmunidad celular (13,14). El rechazo de tipo hiperagudo se presenta también cuando se efectúan trasplantes entre personas ABO incompatibles (18,24).

#### D. INMUNOSUPRESION EN EL TRANSPLANTE.

Con el fin de evitar la respuesta de rechazo del receptor hacia el órgano donado, aumentando así su sobrevivencia, se induce un estado de inmunosupresión, administrando grandes dosis de agentes que actuando sobre las células linfoides, disminuye la respuesta inmunitaria (agentes tales como la azatioprina, ciclofosfámida, metrotexane, corticosteroides y suero antilinfocítico), sin embargo al disminuir las defensas inmunitarias del organismo, aumentan la susceptibilidad a neoplasias (la incidencia de tumores en personas con tratamiento inmunosupresor es 100 veces mayor que en la población general), infecciones por microorganismos - oportunistas (Candida sp, Nocardia sp, Pneumocystis carinii, etc) complicaciones que muchas veces desencadenan en la muerte del - paciente (15,16,17).

## II. FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA

La ciencia del trasplante nació hace más de mil años. Hoy en día, el trasplante de órganos entre dos regiones del mismo individuo, o de un individuo a otro, es un tratamiento común y necesario en la medicina moderna, siendo de vital importancia para el tratamiento de ciertas enfermedades. Se han trasplantado prácticamente todos los órganos; solo en el tratamiento de las nefropatías terminales, se han efectuado ya más de 50 000 trasplantes de riñón, y cada año se llevan a cabo más de 1000 nuevos trasplantes de este tipo, prolongando así la vida útil de estos pacientes (18).

Con el fin de aumentar la sobrevida del trasplante, se administran grandes dosis de agentes inmunosupresores, cuyas complicaciones muchas veces llevan a la muerte. En base a lo mencionado anteriormente consideramos que es necesario un mayor estudio de los mecanismos inmunes de rechazo del trasplante y de factores que influyan sobre él, con el fin de que por medios diferentes a la inmunosupresión con los agentes mencionados, tratar de aumentar la sobrevida del trasplante, de tal manera que su estudio en modelos animales, no excluya la posibilidad de aplicación en el ser humano.

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En la actualidad se conoce poco sobre agentes que ocasionen aumento de la sobrevida del trasplante, exceptuando los agentes - inmunosupresores. Las hemotransfusiones han despertado interés - en este sentido, ya que existen reportes que sostienen haber encontrado un aumento de la sobrevida del trasplante con transfusiones previas (desde 3 a 30 días antes del trasplante), transfusiones tanto de sangre total, linfocitos y eritrocitos (19-21, 24-27) mientras que otros reportes no encuentran aumento de la - sobrevida del trasplante con transfusiones previas (22,23,24).

El mecanismo propuesto para mejorar la sobrevida del órgano transplantado después de transfusiones sanguíneas, no se ha establecido, postulándose lo siguiente:

- a) Que las transfusiones además de promover anticuerpos citotóxicos, originen otros anticuerpos o complejos antígeno-anticuerpos, que protejan al órgano transplantado; se sugiere que anticuerpos contra linfocitos B sean candidatos posibles (28), otro candidato son anticuerpos anti-Ia, que se ha reportado son protectores en animales, y por último se propone que pudieran ser anticuerpos contra idiotipo, que se sabe son protectores del órgano transplantado (24).

- b) Que los responsables del aumento de la sobrevida sean los linfocitos T supresores (21,25-27).

No se ha encontrado aumento de la sobrevida del trasplante efectuando transfusiones de suero (21,23). En el presente - trabajo se investiga el efecto de transfusiones de suero so bre la sobrevida del trasplante, creemos que en el suero - se encuentran factores bloqueadores, como los descritos por Hellström (1972) en un sistema de cultivo mixto de linfocitos, factores que se transfirieran del donador al receptor y que de alguna manera bloqueen la respuesta inmune de rechazo aumentando la sobrevida del trasplante (29,30,31).

Por otra parte ha habido controversia en cuanto a la especi ficidad de transfusiones de sangre total previas al trans- plante; observaciones clínicas han encontrado que el efecto de las transfusiones de sangre total no son específicas (el donador del órgano transplantado es diferente al donador de la sangre para las transfusiones), mientras que reportes de trabajos en ratas y ratones sostiene que el mencionado efec to es específico (el donador del órgano transplantado necesariamente debe donar la sangre para la transfusión) (19-21). En los últimos reportes hacen mención de que sus resultados se deben de tomar con reservas. En el presente trabajo se de

termina la especificidad del efecto de transfusiones de sangre total previas al trasplante, ya que sería de gran importancia en la clínica el determinar si las transfusiones previas al trasplante deben de ser específicas o inespecíficas, si tomamos en cuenta que la mayoría de los trasplantes de órganos sólidos (exceptuando los de riñón), provienen de donadores cadavéricos, por lo que las transfusiones específicas serían prácticamente imposibles.

Como se mencionó anteriormente se ha encontrado aumento de la sobrevida del trasplante con transfusiones previas de linfocitos, por lo que debido a que se cree que estas transfusiones efectúan su efecto induciendo otras poblaciones de células o factores en suero (21,25,26) y a que no se ha determinado en que fracción sanguínea se induce dicha función. en el presente trabajo y por último se determina en que fracción sanguínea (suero o linfocitos de sangre) o en células de bazo, se induce la función de aumentar la sobrevida del - - trasplante.



IV. OBJETIVOS

a. Objetivo general.

Determinar el efecto de las hemotransfusiones en la sobrevida de aloinjertos en un modelo de ratas.

b. Objetivos específicos.

- i. Determinar la especificidad del efecto de transfusiones de - sangre total sobre los injertos, efectuando injertos de piel relacionados (el donador del injerto y sangre es el mismo) y no relacionados (el que dona el injerto es diferente al que dona la sangre), utilizando ratas híbridas como donadoras y progenitoras como receptoras.
- ii. Determinar en que componente sanguíneo (plasma o linfocitos- de sangre), o en células de bazo, se induce la función de - aumentar la sobrevida de aloinjertos.
- iii. Determinar el efecto de transfusiones continuas de suero del donador al receptor sobre la sobrevida de aloinjertos.

V. HIPOTESIS

- a. De acuerdo a observaciones clínicas se ha encontrado que para aumentar la sobrevida del injerto con transfusiones previas, estas no necesariamente deben de ser del mismo que dona el injerto, por lo que suponemos, que el efecto de las hemotransfusiones previas sobre la sobrevida del injerto no es específico.
  
- b. Si las hemotransfusiones previas al injerto aumentan la sobrevida de este, en consecuencia proponemos que dicho efecto está dado por algún componente sanguíneo, que de alguna manera interfiera la respuesta inmune de rechazo.

## VI. MATERIAL Y METODOS

### a. Animales

Se utilizan ratas machos juvenes, de peso entre 150-200 gramos. -  
Las ratas donadoras del injerto son de la cepa híbrida CIIZV - -  
(Long Evans X Wistar), y como receptoras ratas de la cepa singénica  
Wistar.

### b. Realización de injertos (32)

1. Se anestesia la rata donadora en cámara con éter etílico.
2. Se lava cuidadosamente la cola de la rata con jabón y se desinfecta con cloruro de benzalconio (30%).
3. Se presiona ligeramente la cola, cortando la piel en forma de rebanada. El corte de piel debe de ser de alrededor de 1 cm. Se cortan 4 injertos.
4. Se recolectan los injertos en una caja de petri, que contenga 10 ml. de solución salina amortiguada (SSA) (ver apéndice I)

5. Se anestesia la rata receptora y se lava la cola de igual manera que en la receptora.
6. Se presiona ligeramente la cola y se corta alrededor de 1 centímetro de piel. El corte no debe de ser profundo o que la cola sangre ya que esto dificultará la colocación del injerto.
7. Se reemplaza este último con el injerto de piel obtenido de la rata receptora, dando un giro de 180° de acuerdo a su posición original, para que queden los pelos en sentido contrario.
8. Se presiona el injerto con una gasa con el fin de eliminar el aire y evitar el sangrado.
9. Los injertos son protegidos con tubos de vidrio de aproximadamente 4-5 cm. de largo, bastante anchos para que se deslicen en las colas de las ratas.
10. Remueva los tubos 24-36 horas después de realizado el injerto.

c. Realización de hemotransfusiones.

i. Sangre total

1. Se anestesia la rata donadora en cámara con éter - etílico.
2. Se extrae por punción cardíaca 1 ml. de sangre, utilizando una jeringa que contenga 10 unidades de heparina.
3. Marcar las ratas con plumón de manera conveniente.
4. Se anestesian las ratas receptoras y se les administran la sangre obtenida anteriormente por vena de - pene.

ii. Linfocitos

1. Se procede de igual manera que en el método anterior hasta el paso 2.
2. La sangre obtenida se trata en un gradiente de - Ficoll-Hypaque para separar linfocitos.
3. Se lavan los linfocitos 2 veces por centrifugación con SSA (2000 rev/min., radio 14 cm.).

4. Se resuspenden los linfocitos en 1 ml. de SSA.
5. Se administran los linfocitos a las receptoras de igual manera que la sangre total.

### iii. Suero

1. Se anestesia la rata donadora en cámara con éter etílico.
2. Se extrae por punción cardiaca entre 1.5 - 2 ml. de sangre, la cual se coloca en tubos de vidrio y se deja coagular.
3. Se separa el coagulo y se centrifuga durante 15 minu--tos (4000 rev/min., radio 14 cm.)
4. Se separa el suero con una pipeta pasteur y se toma - 1 ml. del mismo, al cual se administra por vena de pene en la rata receptora.

### d. Separación de linfocitos (gradiente de Ficoll-Hypaque).

1. La sangre obtenida es diluida al doble con SSA.
2. Se ponen 2.5 ml. de Ficoll-Hypaque en tubos de 13 x 100 mm

y se la agrega la sangre diluida, teniendo cuidado que no se mezcle.

3. Se centrifuga durante 30 minutos (1500 re/min., radio 14cm.)
4. Se obtiene un anillo en el gradiente, el cual es extraído - con pipeta pasteur.
5. Los linfocitos obtenidos son lavados 2 veces por centrifugación con SSA (2000 rev/min., radio 14 cm. por 10 minutos), y se resuspende en 1 ml. de SSA.

e. Pruebas de compatibilidad

Se realizaron pruebas de compatibilidad cruzadas mayor directa e indirecta, entre ratas donadoras y receptoras de la siguiente manera:

- i. Prueba mayor directa.
  1. Tanto la rata donadora y receptora son sangradas con la ayuda de una pipeta pasteur, del seno retroorbital del ojo, extrayendo aproximadamente 1 ml. de sangre.

2. La sangre de la rata donadora se lava 2 veces con SSA - como ya se mencionó, ajustando el paquete obtenido a -- una suspensión al 5% en solución amortiguada de fosfatos (SAF) (ver apéndice II).
3. La sangre de las ratas receptoras se deja coagular y - se obtiene el suero.
4. Realizar combinaciones entre los sueros de las receptoras y las suspensiones celulares de las donadoras, usan do volúmenes de 0.025 ml.
5. Las mezclas son incubadas a 37°C por 30 minutos, y posteriormente a 4° C durante toda la noche.
6. Buscar ausencia de aglutinación y escoger las parejas do nador-receptor compatibles.

ii. Prueba mayor indirecta.

1. Proceder de igual manera que con la prueba directa has-ta el paso número 4.



2. A la mezcla de suero eritrocitos, adicionar 0.023 ml. de suero de conejo anti-gamaglobulina de rata.

3. Proceder de igual manera que con la prueba directa.

f. Metodología Parte I.

Se utilizan en total 30 ratas donadoras CIIZV y 30 ratas receptoras Wistar. Se dividen en tres grupos (cada grupo tiene 10 ratas CIIZC y 10 Wistar), el grupo testigo (no recibe transfusión sanguínea, solo el aloinjerto), grupo relacionado y grupo no relacionado. Se efectúan pruebas cruzadas para obtener parejas donador-receptor compatibles, posteriormente se efectúan transfusiones de 1 ml. de sangre total de las ratas donadoras a las receptoras, - con intervalos de 1 semana 4 veces. En seguida se hacen los injertos de piel de cola relacionados, no relacionados y testigos. Se determina la sobrevivencia de los injertos durante 45 días; se considera el injerto como rechazado, cuando se ha desprendido totalmente.

g. Metodología Parte II

i. Se utilizan 18 ratas donadoras y 18 receptoras. Se efectúan pruebas cruzadas para obtener parejas donador-receptor com-

patibles, posteriormente se efectúan 2 donaciones de linfocitos de las donadoras a las receptoras, con intervalos de 15 días.

- ii. 15 días después de la segunda donación de linfocitos, se sacrifican las ratas receptoras (Wistar) y se obtiene de 6 de ellas linfocitos de sangre, de otras 6 suero y de las restantes células de bazo. Estos componentes son transfundidos a ratas singénicas Wistar, al mismo tiempo que estas últimas reciben los injertos de las ratas donadoras CIIZV. Se determina la sobrevida de los injertos durante 45 días de igual manera que en la metodología de la Parte I. Se incluye también un grupo testigo que tenga 6 ratas donadoras y 6 receptoras.

h. Metodología Parte III.

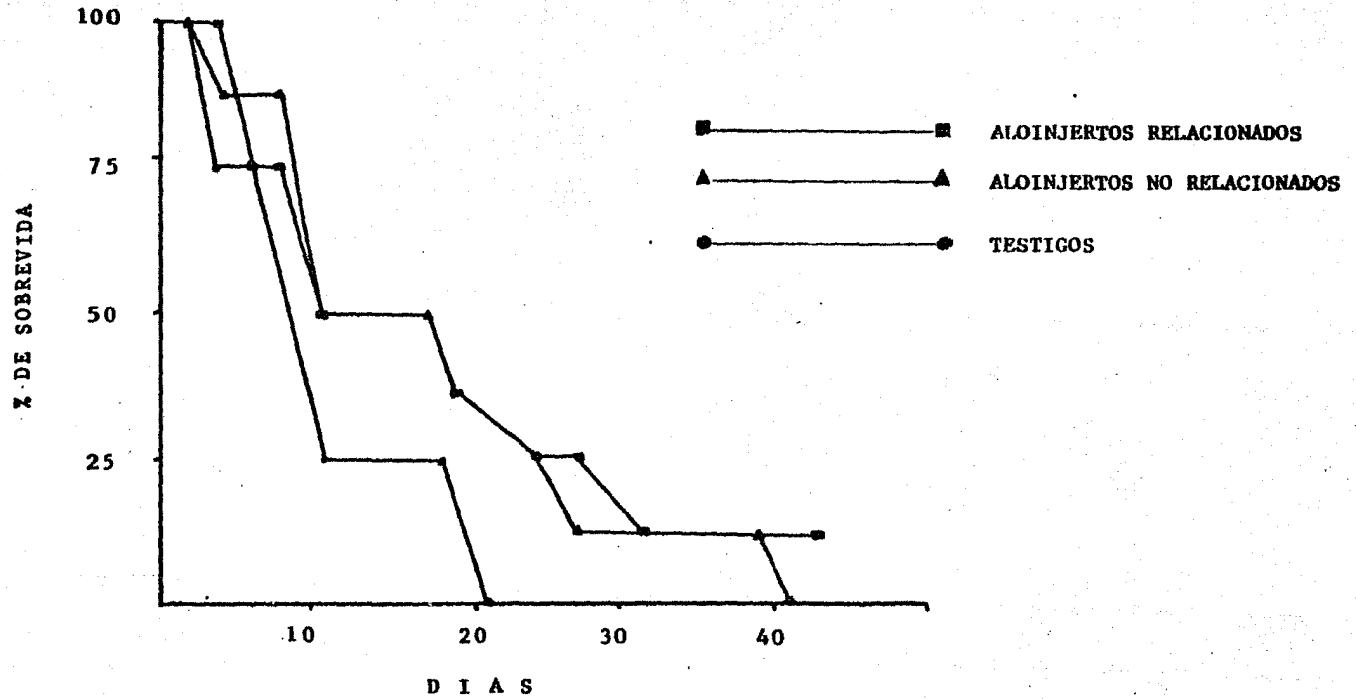
Se utilizan 24 ratas donadoras y 24 ratas receptoras. Se dividen en 2 grupos, el primero será el testigo, el segundo recibirá - - transfusiones seriadas de suero. Se efectúan pruebas cruzadas para obtener parejas donador-receptor compatibles. Se efectúa una transfusión de suero ( 1ml.), 3 días después se realizan los injertos. Posteriormente se realizan transfusiones de 1 ml. de sue-

ro semanales durante 1 mes, a partir del día en que se realiza -  
la primera transfusión. Se determina la sobrevivencia de los injer--  
tos durante 55 días de igual manera que en la metodología de la  
Parte I.

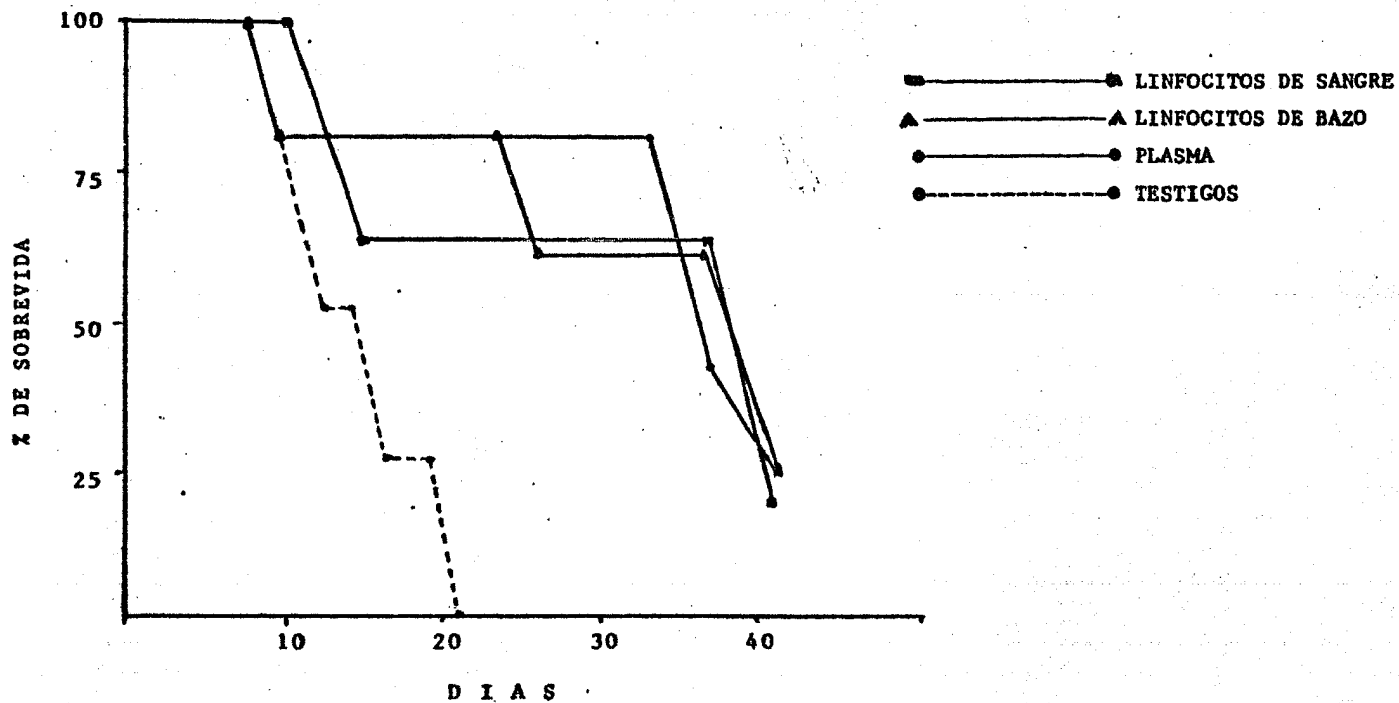
## VII. RESULTADOS

A continuación se muestran los resultados obtenidos en cada uno de los experimentos realizados en forma de gráficas.

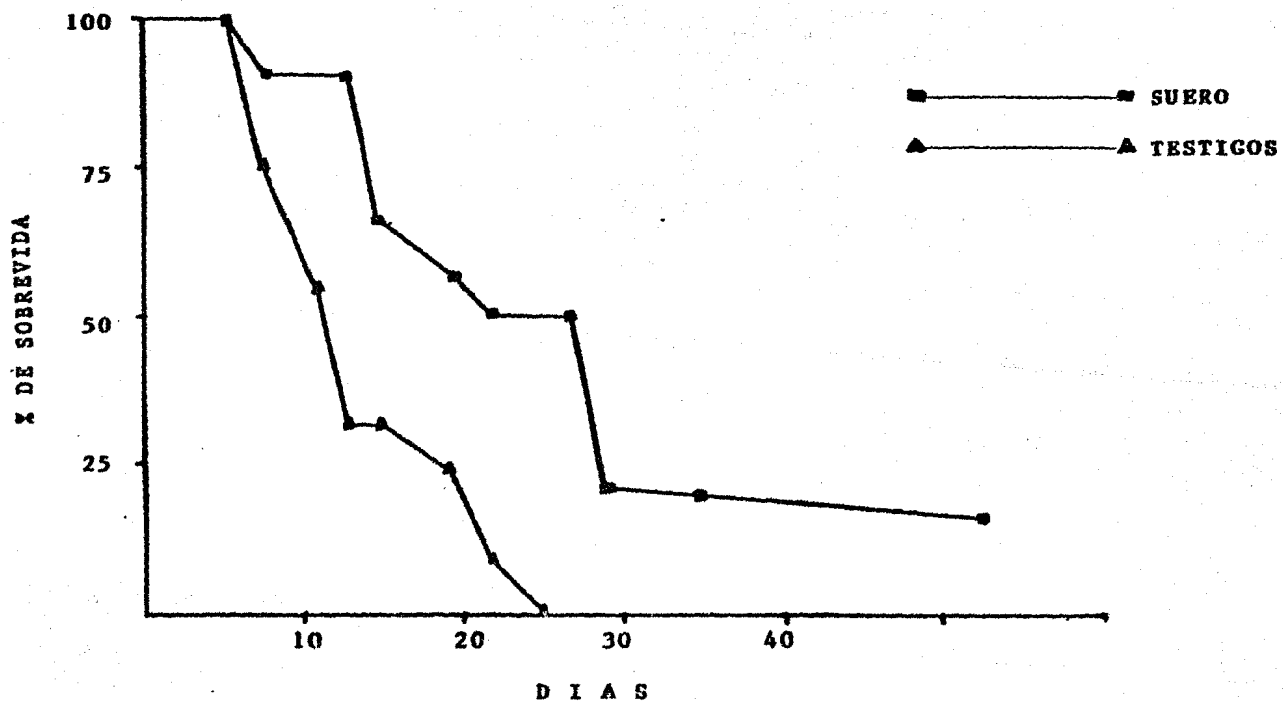
GRAFICA - 1



G R A F I C A - 2

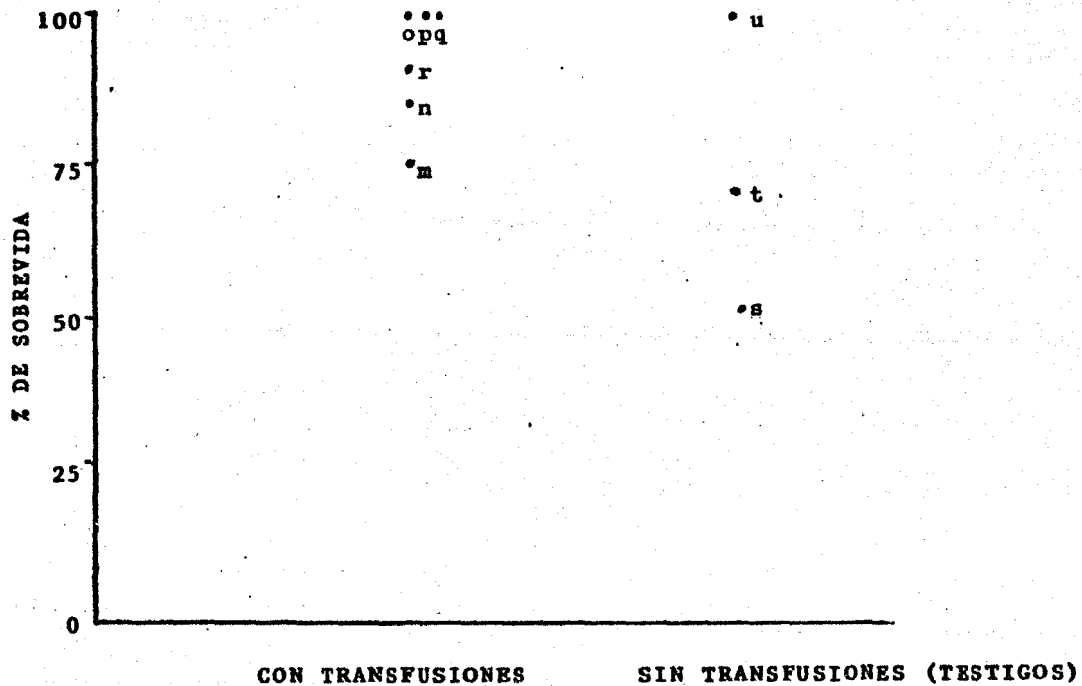


GRAFICA - 3



G R A F I C A - 4

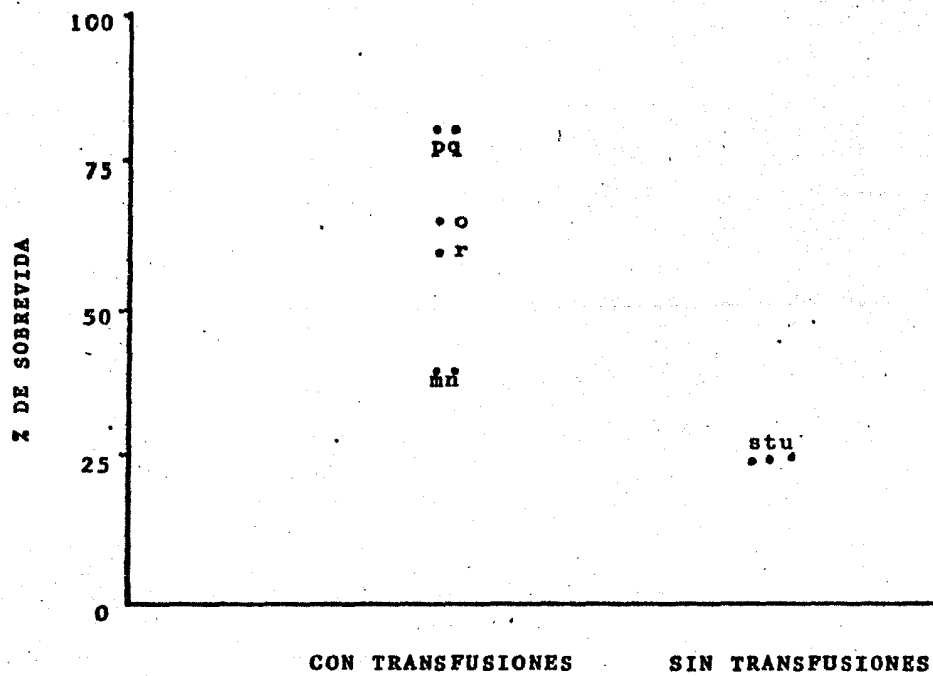
---DIA 8 DESPUES DEL INJERTO---





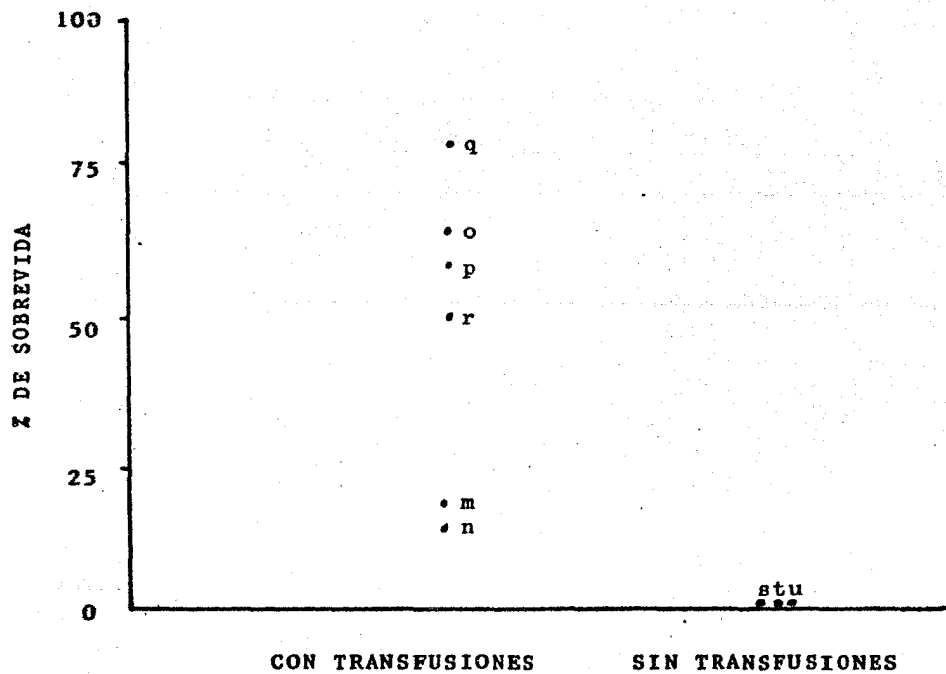
GRAFICA - 5

20 DIAS DESPUES DEL INJERTO



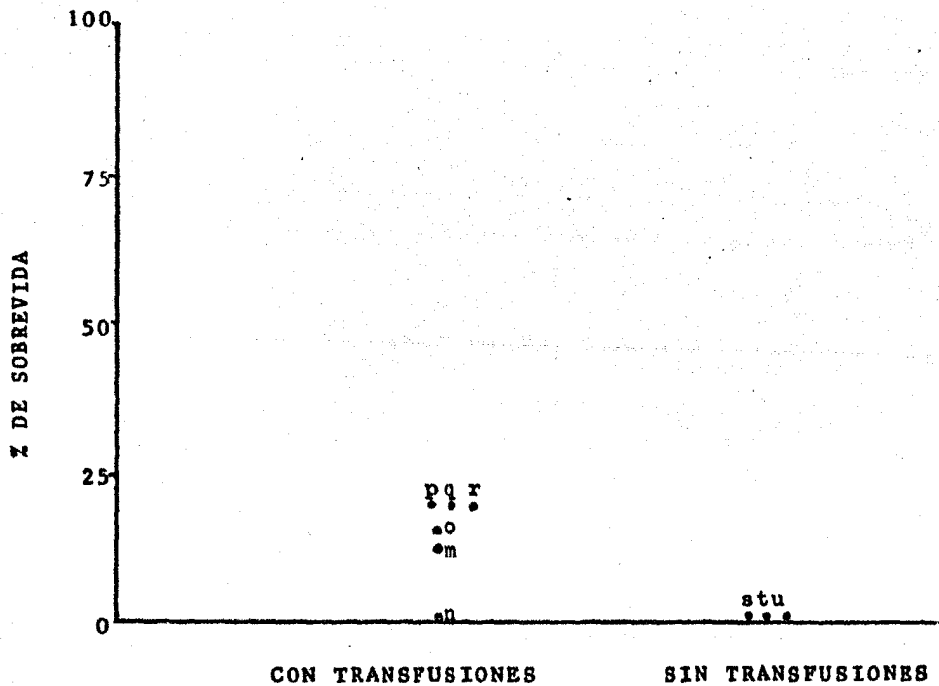
G R A F I C A - 6

DIA 27 DESPUES DEL INJERTO



G R A F I C A - 7

41 DIAS DESPUES DEL INJERTO



En la gráfica 1, se muestra la influencia de transfusiones de sangre total previas al injerto, tanto para injertos relacionados como para no relacionados y testigos; se calculan los porcentos de sobrevida a diferentes tiempos después de haber sido realizados los injertos. Se observa que la sobrevida de los injertos en las ratas que recibieron transfusiones de sangre total es mayor que en las ratas testigo. No se aprecia diferencia entre los aloinjertos relacionados y los no relacionados.

En la gráfica 2 se muestra la influencia de transfusiones de linfocitos de sangre, suero y células de bazo (realizadas en la forma mencionada en la metodología). Se observa aumento de la sobrevida de los injertos en las ratas que recibieron transfusiones de cualquiera de las fracciones mencionadas, en relación a las ratas testigo.

En la gráfica 3 se muestra la influencia de transfusiones seriadas de suero, sobre la sobrevida de los aloinjertos. Se puede observar un aumento significativo en la sobrevida de los injertos de las ratas que recibieron suero, en relación con las ratas testigo.

En las gráficas 4-7 se muestra el porcentaje de sobrevida de cada una de las poblaciones de ratas que recibieron transfusiones y de las que no recibieron transfusiones, a diferentes días después de haber sido realizados los trasplantes. La designación de cada población es de la siguiente manera:

- m. Con transfusiones y aloinjertos relacionados.
- n. Con transfusiones y aloinjertos no relacionados.
- o. Con transfusiones de linfocitos de sangre.
- p. Con transfusiones de células de bazo.
- q. Con transfusiones de suero.
- r. Con transfusiones seriadas de suero.
- s. Sin transfusiones, testigos Parte I.
- t. Sin transfusiones, testigos Parte II.
- u. Sin transfusiones, testigos Parte III.

En la gráfica 4, después de 8 días de haber sido realizados los injertos, no se observa diferencia en la sobrevida de los injertos entre las poblaciones que recibieron transfusiones y las que no las recibieron.

En la gráfica 5, 20 días después de haber sido realizados los injertos, - tanto la sobrevida de las poblaciones que recibieron transfusiones como de las que no las recibieron disminuye, pero se observa que la sobrevida de los injertos de las primeras es significativamente mayor.

En la gráfica 6, 27 días después de haber sido realizados los injertos, - las poblaciones de ratas que no recibieron transfusiones rechazan en su totalidad los injertos, mientras que las que si recibieron transfusiones tienen un significativo porcentaje de sobrevida.

En la gráfica 7, 41 días después de realizados los injertos, se muestra - que solamente una de las seis poblaciones que recibieron transfusiones, - rechazan en su totalidad el injerto, mientras que las demás presentan cer ca de un 25 por ciento de sobrevida.

## VIII. DISCUSION Y CONCLUSIONES

Al efectuar transfusiones de sangre total previas a los injertos relacionados y no relacionados, encontramos aumento en la sobrevivida de estos en relación a los injertos de las ratas testigo -- (gráficas 1, 4-7), esta diferencia se pone de manifiesto después de 10 días de realizados los injertos. Los testigos se rechazan en su totalidad 25 días después de realizado el injerto, mientras que los que recibieron transfusiones más allá del día 40. No encontramos diferencia significativa en la sobrevivida de los aloinjertos relacionados y no relacionados, por lo que deducimos que en nuestro modelo el efecto de las transfusiones previas de sangre total, sobre la sobrevivida de aloinjertos, es no específico, de tal manera que el donador del injerto no necesariamente debe de ser el donador de la sangre para lograr el efecto de ésta. Estos resultados son opuestos a los encontrados por Wood (1981), el cual sostiene que el efecto de transfusiones previas de sangre total es específico, por otra parte apoyan ciertas observaciones clínicas que han encontrado aumento de la sobrevivida de trasplantes -- con transfusiones previas, siendo los donadores de sangre y del trasplante diferentes.

Como se mencionó con anterioridad, se ha encontrado aumento de la sobrevivida de los injertos con transfusiones previas de linfocí

tos (20,21), creyéndose que inducen la formación de otras poblaciones de células o factores en suero, por lo anterior nos pareció interesante investigar al respecto, para lo cual efectuamos transfusiones de linfocitos 30 y 15 días antes de realizar el in jer to, de ratas CIIZV (A) a Wistar (A), y posteriormente transfiriendo poblaciones de linfocitos de sangre, células de bazo y -- suero de ratas Wistar (A) a Wistar (B), junto con el injerto. Encontramos que las 3 fracciones aumentan la sobrevida del injerto en forma parecida (gráficas 2,4-7), esto se pone de manifiesto - 10 días después de realizados los injertos. Los testigos se rechazan en su totalidad a los 22 días, mientras que los que recibieron transfusiones presentan todavía 25 por ciento de sobrevida en el día 41. El aumento de la sobrevida de los aloinjertos por la transfusión de cualquiera de las 3 fracciones, se podría explicar entre otras de las siguientes maneras: a) que los linfocitos de la primera donación (de CIIZV a Wistar A) induzcan la for ma ción de poblaciones de linfocitos T supresoras, (las cuales es bi én sa bi do ti en de n a lo ja r se e n e l ba zo), que son las que se transfieren durante la segunda donación (de Wistas A a Wistar B) y que depriman la respuesta inmune de rechazo hacia el ó rg ano do na do, aumentando la sobrevida del mismo b) que los linfocitos in du z ca n la for ma ción durante la primera donación, de factores blo que ada do re s e n su ero, los cuales se transfieran en la segunda do na ción



ción posterior de suero, interfiriendo con la respuesta inmune -  
de rechazo y aumentando la sobrevida del injerto.

Al efectuar transfusiones seriadas de suero, encontramos un aumen  
to significativo de la sobrevida de los aloinjertos, en relación a  
las ratas testigo. El efecto se pone de manifiesto después del -  
día 10, los testigos se rechazan en su totalidad en el día 25, -  
mientras que los que recibieron transfusiones de suero en el día  
53 todavía presentan un 20 por ciento de sobrevida (gráfica 3,4,7).  
Estos resultados se oponen a los encontrados por Wood (1981) y -  
Allen (1983), debido a que ellos utilizando un modelo parecido -  
encuentran disminución o ningún aumento de la sobrevida de aloin  
jertos con transfusiones previas de suero. La diferencia en los  
resultados mencionados, puede deberse a la diferencia de volumen  
empleado, ya que estos investigadores administran un volúmen de  
0.1 ml. mientras que nosotros administramos 1 ml. durante 1 mes.  
En base a nuestros resultados podemos afirmar que las transfusio  
nes de suero sí aumentan la sobrevida de los aloinjertos, y que  
el responsable pudiera ser un factor bloqueador presente en el  
suero, como los descritos por Hellström (1972), que tiene la ca-  
pacidad de interferir con la respuesta inmune de rechazo de algu  
na manera, o un factor que induzca la liberación de células T -  
supresoras.

Cabe señalar que en los pasos preeliminares de nuestro trabajo, se efectuaron ensayos, en los cuales se comprobó que las ratas CIIZV son diferentes entre sí (rechazan injertos entre ellas), mientras que las Wistar son singénicas ( no rechazan injertos - entre ellas),. Se hicieron aloinjertos y autoinjertos (en la misma rata), en ratas con transfusiones previas y no transfundidas, para lo que se tomaron las ratas CIIZV como donadoras y Wistar - como receptoras, lo anterior para seleccionar el modelo de experimentación adecuado. Esperabamos que los autoinjertos tanto en las ratas que recibieron transfusiones como en las no transfundidas, no presentaran rechazo alguno, sorpresivamente encontramos que los autoinjertos al igual que los aloinjertos se rechazan. Consideramos interesante este fenómeno de sinergismo en el rechazo, necesitándose entonces investigar más al respecto.

El aumento de la sobrevivida del injerto por medio de transfusiones, es uno de los temas más interesantes y prometedores en el campo de los trasplantes, por lo que consideramos de gran importancia el seguir investigando al respecto.

## IX BIBLIOGRAFIA

1. Marquiss, C.J.; Casson, P.R: The Historical Background of Transplantation, en Human Transplantation by Rapaport, T.F. y Dausset, J. ed. Grijne & Stratton New York. Pag. 3 (1968)
2. Dausset, J.; et al: Serologically defined HLA antigens and long-term survival of cadaver Kidney Transplants: A joint of 918 cases performed by france transplant and the London Transplant group. - N. Engl. Med. 290:979 (1974).
3. Patel, R.; Terasaki, P.I: Significance of the positive cross mach Test in Kindney. Transplantation N. Engl. J. Med. 280:735 (1969)
4. Munro, A; Bright, S.: Products of the major histocompatibility -- complex and their relationship to the inmune response. Nature 264: 145 (1976)
5. Langman, R.E: Cell-Mediated Immunity and the Major Histocompatibility Complex. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol 81:2 (1978).
6. Bach, F.H.; Bach, M.L. Sondel, P.M.: Differential function of major histocompatibility complex antigens in T lymphocyte activation. Nature. 259:273 (1976)
7. Iványi, R.: Some aspects of the H-2 system. The major histocompatibility in the mouse. Proc. R. Soc. London. 202,117 (1978).
8. Sohein, B.G.; Thorsby, E.: B-2 Microglobulin is part of the HLA molecule in the lymphocyte membrane. Nature 249:30 (1974).
9. Rankonen, R.: Soots, A.; et al: Lymphoid Cell Subclasses in Reject

- ing. Renal Allograft in the Rat. Cell Immunology. 77: 185 (1983).
10. Lowry, R.P.; Curley, K.E.; Forbes, R.D.C.: Immune Mechanisms in Organ Allograft Rejection. Transplant., Proc. XIV: 679 (1982)
  11. Dallman, M.J.; Mason, D.W.: Cellular Mechanisms of Skin Allograft Rejection in the Rat. Transplant. Proc. XV: 335 (1983)
  12. Thorsby, E.: Biological Function of HLA. Tissues Antigens. 11: 321 (1978).
  13. Perlmann, P.; Perlman, H.: Contractual lysis of antibody coated chicken erythrocytes by purified lymphocytes. Cell Immunol. V:30 (1970)
  14. Berg, G.A.H.; Shen, L.; Walker, L.; Walker, L.; Arnaiz-Villena, A. and Roitt I.M: Characteristics of the effector cells mediating - cytotoxicity against antibody-coated target cell II. The mouse nonadherent K cell. Eur. J. Immunol. 5:474 (1975).
  15. Pann, I.: The incidence of malignancies in transplant recipients. Transplant. Proc. 7:323 (1975)
  16. Tark, J.L.; Parker, D.: The effect cyclophosphamide on the immune response J. Immunopharm. 1: 127 (1979)
  17. Fanoi, A.C.: Mechanisms of the immunosuppressive and anti-inflammatory effects of glucocorticosteroids. J. Immunopharm 1:1 (1979)
  18. Galgand, M.C.: Transplantes de Organos en inmunologia, editado por Bellanti, ed. Interamericana, pag. 467 (1986)

19. Fassbinder, W.; Fru, V.G.; Parsijn et al: Graft Survival in Renal Allograft Recipients Transfused Perioperatively Only. Transplant Proc. XLV: 164 (1982)
20. Okazaki, H.; Takashi, M; Wood, M.; Monaco, P.A.: Effect of a single Transfusion of donor-Specific and Nonspecific blood on skin - allograft survival in mice. Transplantation. 30:421 (1980)
21. Wood. P.; Horsburgh, T.; Brant, L.: Specific Unresponsiveness to skin allografts in mice. Transplantation. 31:8 (1981).
22. Berg, K.R; Nghiem D.D.; Gorry, R.J.: Effect of tranfusion of donor on Allograft Survival. Transplantation 34:344 (1982)
23. Allen A.H.: dyer, P.; Geogheacan,T, et al: Plasma Exchange in - acute renal allograft Rejection. Transplantation 35:425 (1983)
24. Perkins, H.A.; Transplantation Immunology in Basic and Clinical immunology ed by Fundemberg et al. Lange (1980).
25. Kilshaw, P.J.; Brant, L.; Pint, M.: Suppressor T cells in made - unresponsive to skin allografts. Nature 255:489 (1975)
26. Katz, S.I.; Parker, D.; Summer, G.; Turk, J.L: Suppressor Cells in normal immunisation as a basic homeostatic phenomenon. Nature 248: 612 (1974)
27. Cooke, A.; Hutchings, P.R.: Playfair, J.H.L.: Suppressor T cells in experimental autoimmune haemolytic anaemia. Nature 273: 154 (1978)

28. Opelz, G.; Terasaki, P.I: Improvement of Kidney-Graft survival - with increased numbers of blood transfusions. N. Engl. J. Med. - 299:799 (1978)
29. Wegmann, t.G.; Hellström, I.; Hellström K.E.: Immunological tolerance; Forbidden clones"allowed in intetraparental mice (serum blocking factor). Proc. Nat. Acad.Sci. USA 68:1644 (1974)
30. Hellström, I.; Hellström, K.F.; Can "Blocking" serum factor - - protect against autoimmunity. Nature 240:471 (1972)
31. Mintz, B.: "Intrinsic" Immunological Tolerance in Allpphenic Mice. Science 158:1484 (1967).
32. Hudson, L.; Hay, F.C.: Practical Immunology. Blackwell Scientifica Publications, Pag. 64 (1976)
33. Manual de prácticas de inmunología determinación de linfocitos. Ed. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas pag. 19 (1976).

X. A P E N D I C E

I. Solución Salina Amortiguadora (SSA)

Cloruro de Calcio	0.14 gr.
Cloruro de Sodio	8.0 gr.
Cloruro de Potasio	0.40 gr.
Sulfato de Magnesio	0.2 gr.
Cloruro de Magnesio	0.2 gr.
Fosfato Monopotásico	0.06 gr.
Fosfato Disódico	0.24 gr.
Glucosa	1.0 gr.

Disolver en 1 litro de agua destilada.

II. Solución Amortiguadora de Fosfatos (SAF)

Cloruro de Sodio	8.0 gr.
Cloruro de Potasio	0.2 gr.
Fosfato Disódico	1.15 gr.
Fosfato de Potasio	0.2 gr.

*Esta Tesis fué elaborada en su  
totalidad en los Talleres de -  
Impresos Moya, Rep. de Cuba -  
No. 99, Despacho 23  
México 1, D.F. Tel. 5-10-89-52*