

Nº 174
2F1



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"HLA, UNA VISION ACTUAL"

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION

Que para obtener el Título de
Químico Farmacéutico Biólogo
p r e s e n t a

ARTURO ZAVALA TREJO



México, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



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 está 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.

I N D I C E .

		Pág.
1.	Introducción.	1
2.	Antígenos del Sistema HLA.	3
2.1.	Antígenos de Clase I.	4
2.2.	Antígenos de Clase II.	8
2.3.	Herencia del Sistema HLA.	10
2.4	Nomenclatura para el Sistema HLA.	11
2.5.	Pruebas de microlinfocitotoxicidad para tipificación HLA.	14
2.6	Cultivo mixto de linfocitos	15
3.	Trasplantes.	19
3.1.	Trasplante renal.	19
3.2.	Trasplante de médula ósea.	27
3.3.	Donadores.	30
3.3.1.	Donador vivo relacionado y donador vivo no relacionado.	30
3.3.2.	Donador cadáver.	32
3.3.3.	Donadores anencefálicos.	34
3.3.4.	Donadores fetales.	35
3.3.5.	Los animales como donadores de órganos.	37
3.4	Transfusiones de plaquetas.	38

	Pág	
3.5.	Determinación de estados de presensibilización.	43
3.5.1.	Microlinfocitotoxicidad.	43
3.5.2.	Fluorescencia.	44
3.5.3.	Citometría de flujo.	45
3.6.	Inmunosupresión.	47
3.6.1.	Ciclosporina A.	47
3.6.2.	FK-506.	49
3.6.3.	Anticuerpos monoclonales anti-CD3.	49
3.7.	Enfermedades asociadas a los trasplantes.	50
3.7.1.	Enfermedades transmitidas por medio de los órganos trasplantados	50
3.7.1.1.	Enfermedades virales.	51
3.7.1.2.	Enfermedades bacterianas.	52
3.7.1.3.	Enfermedades parasitarias.	53
3.7.1.4.	Cáncer.	53
3.7.2.	Enfermedades debidas a la inmunosupresión.	54
3.7.2.1.	Enfermedades virales.	56
3.7.2.2.	Enfermedades bacterianas.	57
3.7.2.3.	Enfermedades micóticas.	58
3.7.2.4.	Enfermedades parasitarias.	59
4.	Asociación HLA-Enfermedad.	60
5.	HLA y paternidad.	64

		Pág.
6.	Conclusiones.	65
7.	Bibliografía.	68

1. INTRODUCCION.

La supervivencia de un individuo depende de su capacidad para reconocer sustancias extrañas y responder en contra de ellas. Este sistema de defensa es básico para la supervivencia, pero al mismo tiempo resulta el obstáculo más importante para que un individuo acepte el trasplante de un tejido procedente de otro individuo, ya que los antígenos extraños existentes en las células del donador son capaces de desencadenar la respuesta inmunológica del receptor. Esos antígenos reciben el nombre de antígenos de histocompatibilidad. Los mamíferos, aves, anfibios y peces poseen sistemas o complejos de histocompatibilidad. En el hombre el complejo principal de histocompatibilidad (MHC) recibe el nombre de HLA (Human Leucocyte Antigen) (14).

El inicio del estudio de lo que hoy conocemos como sistema HLA se da en 1916, cuando Little y Tyzzer determinaron la base genética de los trasplantes (14). En la actualidad el estudio de este sistema está encaminado a lograr una mejor comprensión de los mecanismos de control de la respuesta inmunológica.

Las aplicaciones de los conocimientos que actualmente se tienen sobre el sistema HLA son muy variados, entre éstos se

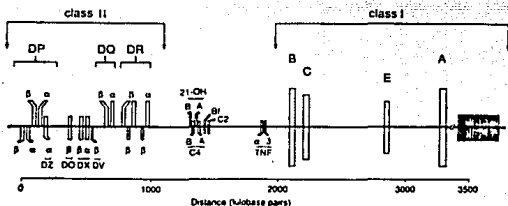
encuentran: trasplantes, transfusiones de plaquetas, resolución de casos legales de paternidad y asociación de antígenos HLA con la susceptibilidad a ciertas enfermedades.

En los capítulos siguientes se desarrollará una exposición de los principales aspectos que se ven involucrados dentro del sistema HLA en base a los conocimientos que sobre él actualmente se tienen.

2. ANTIGENOS DEL SISTEMA HLA.

El funcionamiento del sistema inmunológico en los organismos superiores involucra la generación de respuestas a diferentes tipos de bacterias y virus. La suma total de respuestas puede ser analizada en términos de dos tipos de inmunidad: humoral y celular.

La regulación de este sistema inmunológico es realizada, en parte, por moléculas codificadas por genes del llamado complejo principal de histocompatibilidad (MHC). En los humanos, esos genes se encuentran localizados en el brazo corto del cromosoma 6 y son llamados Sistema HLA (Human Leucocyte Antigen) (105) (Figura 2.1.).



Yunis E. J., 1988.

Figura 2.1. Mapa del Complejo Principal de Histocompatibilidad Humano.

Las moléculas codificadas por los genes del Sistema HLA son los antígenos: clase I, clase II y clase III.

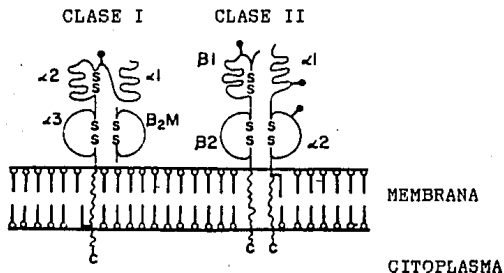
El sistema HLA es el sistema más polimórfico encontrado en los humanos, hasta 1987 se conocían 144 alelos (63, 83) para los genes que codifican los antígenos de las clases I y II, además de los que codifican los antígenos de clase III (105).

El polimorfismo del sistema HLA juega un papel muy importante en el establecimiento de la respuesta inmune, constituye la mayor barrera para el trasplante de tejidos entre los individuos y determina la susceptibilidad a una gran variedad de enfermedades (13, 52).

2.1. ANTIGENOS DE CLASE I.

Los antígenos de clase I están formados por dos cadenas proteicas con pesos moleculares de 40-45 kD y 13 kD. La cadena de mayor peso molecular o α (variable o polimórfica) es codificada por el cromosoma 6, mientras que la cadena de menor peso molecular (constante), llamada β_2 -microglobulina, es codificada por el cromosoma 15. La cadena α tiene un segmento externo, dividido en tres dominios: α_1 , α_2 y α_3 , cada uno de los cuales está constituido por aproximadamente 90 residuos de aminoácidos.

Los dominios α_2 y α_3 tienen enlaces disulfuro arreglados de manera similar a los de las inmunoglobulinas (14, 15, 54, 68, 90, 105). El dominio α_3 se encuentra unido a una pequeña cadena hidrofóbica que fija la molécula a la membrana celular y se extiende hacia el interior de la célula formando un pequeño dominio citoplásmico. La estructura cristalina revela que la β_2 -microglobulina y el dominio α_3 están asociados, uno con otro, próximos a la membrana citoplásmica y que los dominios α_1 y α_2 se encuentran sobre ellos (16, 54, 68) (Figura 2.2).

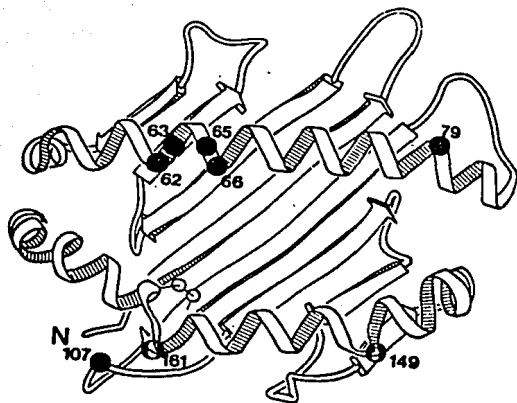


Strominger J. L., 1987.

Figura 2.2. Antígenos de clases I y II. S-S indica enlaces disulfuro entre residuos de cisteína, C indica carboxilo terminal, (Y) indica cadenas laterales de carbohidratos.

La secuencia de 39 moléculas de clase I ha mostrado que todas ellas tienen la misma estructura y organización básicas: el dominio α_3 , al igual que la β_2 -microglobulina tienen homología con los dominios constantes de las inmunoglobulinas y los dominios α_1 y α_2 tienen secuencias únicas, aunque es posible encontrar algunas semejanzas entre ellas (15, 68, 69).

La estructura tridimensional determinada por análisis cristalográfico, muestra que los dominios α_1 y α_2 interactúan para formar el sitio de reconocimiento de péptidos, el cual es sostenido por el dominio α_3 y la β_2 -microglobulina. El sitio de reconocimiento tiene la forma de un canal de aproximadamente 25 Å de largo y 10 Å de ancho, cuyas orillas están formadas por dos α -hélices antiparalelas, una procedente del dominio α_1 y la otra del dominio α_2 . El fondo del canal esta formado por cadenas laterales de los dominios α_1 y α_2 acomodadas en forma de ocho hojas plegadas antiparalelas (15, 54, 68) (Figura 2.3.).



Parham P., 1988.

Figura 2.3. Estructura del sitio de reconocimiento de la molécula clase I.

Los antígenos de clase I están expresados en prácticamente todas las células nucleadas (105) y están involucrados en la regulación de la respuesta de las células T citotóxicas, T_c. En este caso, las células T_c realizan su función reconociendo determinantes antigénicos en asociación con antígenos de clase I (105).

Dentro de los antígenos de clase I se encuentran incluidos los antígenos: HLA-A, HLA-B, HLA-C y otros de reciente descubrimiento: HLA-E (40, 41, 50), HLA-F (40) y HLA-G (40).

2.2. ANTIGENOS DE CLASE II.

Los antígenos de clase II fueron descubiertos como contaminantes de las preparaciones de antígenos de clase I. Los antígenos de clase II, al igual que la cadena α de los antígenos de clase I, son codificados por genes localizados en el brazo corto del cromosoma 6 (13, 47, 90).

Los antígenos de clase II sólo se encuentran expresados en ciertos tipos de células, como los macrófagos y los linfocitos B (52, 105).

Los antígenos de clase II juegan un papel muy importante en el reconocimiento del antígeno por las células T cooperadoras (T_H). Los determinantes antigénicos de los organismos extraños son presentados en la membrana del macrófago en asociación con las moléculas de clase II, siendo reconocido este complejo, por el receptor de la célula T_H (52, 105).

Se han descrito cuatro subclases principales de antígenos de clase II: HLA-D, HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ, y recientemente

dos más: HLA-DZ y HLA-DO (13, 16, 47, 52, 90, 105).

Los antígenos de clase II están formados por heterodímeros de cadenas proteicas α y β . La cadena α tiene un peso molecular de 30-33 kD, mientras que la β pesa 27-29 kD. La diferencia en los pesos resulta del hecho de que las cadenas α están sustituidas por dos cadenas de oligosacáridos N-enlazados, mientras que las cadenas β sólo están sustituidas por uno (16, 47, 52, 105).

Cada cadena tiene dos dominios extracelulares de 90-100 residuos de aminoácidos cada uno, una región transmembranosa de 20-25 residuos y una región intracelular de 8-15 residuos (47, 90, 105).

Los dominios próximos a la membrana, α_2 y β_2 , tienen gran homología con los dominios de las inmunoglobulinas (son altamente conservados). Los dominios α_1 y β_1 , no presentan tal homología (47).

La estructura de los antígenos de clase II es parecida a la de los antígenos de clase I, difieren en la manera en que están interconectados los dominios extracelulares (en las moléculas de clase I los dominios α_1 , α_2 y α_3 están unidos en una sola cadena, la β_2 -microglobulina es una molécula separada y sólo la cadena α de los antígenos de clase I atraviesa la membrana citoplásmica) (47).

No se sabe aún con certeza, si esas diferencias estructurales tienen alguna repercusión en la función de las moléculas (47, 90).

En la actualidad, no existe un modelo de la estructura tridimensional de los antígenos de clase II, pero se está trabajando en él tomando como base la estructura cristalina del antígeno de clase I: HLA-A 2 (15, 54).

2.3. HERENCIA DEL SISTEMA HLA.

Los loci del sistema HLA se heredan en bloque hacia la descendencia. El complejo de genes unidos que reside en un cromosoma del par homólogo y que se segrega en bloque hacia la descendencia se denomina "haplotipo". Cada individuo tiene dos haplotipos, uno heredado de cada progenitor, y, por lo tanto, puede tener uno de cuatro genotipos posibles. Si se designan como "a" y "b" los haplotipos paternos y como "c" y "d" los maternos, los genotipos posibles en los descendientes son: "ac", "ad", "bc" y "bd". De esto se puede concluir que: si un individuo tiene 4 hermanos, la probabilidad de que comparta 2 haplotipos con alguno de ellos es del 25 %, de que comparta un haplotipo es del 50 % y de que no comparta haplotipos es del 25 %, siempre que no haya recombinación, ya que éste es un fenómeno normal que incrementa la diversidad genética (14, 94).

2.4. NOMENCLATURA PARA EL SISTEMA HLA.

La terminología que se aplica al sistema HLA procede del Comité de Nomenclatura del HLA de la Organización Mundial de la Salud, el cual se reúne cada cuatro años.

Cada locus del complejo HLA se designa por una o más letras después de las siglas HLA: HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR, HLA-D, seguidas de un número, cuando se trata de una especificidad bien definida, o por "w" y un número, cuando se trata de una denominación provisional, ejemplos: HLA-A1 y HLA-Bw22, respectivamente. En el caso del locus C, en el que algunas de sus especificidades se encuentran bien definidas, no se ha eliminado la "w" para que no exista confusión entre esta nomenclatura y la de los factores del complemento.

A medida que las especificidades se han ido identificando, algunas de las más amplias (supertipos) se han subdividido en otras más estrechas (subtipos), como en el caso del supertipo HLA-B16 cuyos subtipos son HLA-B38 y HLA-B39. Para nombrar a estos subtipos, se debe poner entre paréntesis, al final, el número del supertipo del cual han derivado, por ejemplo: HLA-B 38(16) (14, 3).

En 1987 se conocían: 24 alelos del locus A, 50 del locus B, 11 del locus C, 6 del locus DP, 9 del locus DQ, 18 del locus DR y 26 del locus D (63, 83). Las asignaciones fueron

hechas por el Comité de Nomenclatura reunido en Nueva York en Noviembre 21-23 de 1987 (83, 83). En el cuadro 2.1 se presenta la lista completa de especificidades HLA.

		C	A
B5	Bw50(21)	Cw1	A1
B7	B51(5)	Cw2	A2
B8	Bw52(5)	Cw3	A3
B12	Bw53	Cw4	A9
B13	Bw54(w22)	Cw5	A10
B14	Bw55(w22)	Cw6	A11
B15	Bw56(w22)	Cw7	Aw19
B16	Bw57(17)	Cw8	A23(9)
B17	Bw58(17)	Cw8(w3)	A24(9)
B18	Bw59	Cw10(w3)	A25(10)
B21	Bw60(40)	Cw11	A26(10)
Bw22	Bw61(40)		A28
B27	Bw62(15)		A29(w19)
B35	Bw63(15)		A30(w19)
B37	Bw64(14)		A31(w19)
B38(16)	Bw65(14)		A32(w19)
B39(16)	Bw67		Aw33(w19)
B40	Bw70		Aw34(10)
Bw41	Bw71(w70)		Aw36
Bw42	Bw72(w70)		Aw43
B44(12)	Bw73		Aw66(10)
B45(12)	Bw75(15)		Aw68(28)
Bw46	Bw76(15)		Aw69(28)
Bw47	Bw77(15)		Aw74(w19)
Bw48			
B49(21)	Bw4		
	Bw6		

Cuadro 2.1. Especificidades de los antígenos de Clase I conocidas hasta 1987 (83).

DP	DQ	DR	D
DPw1	DQw1	DR1	Dw1
DPw2	DQw2	DR2	Dw2
DPw3	DQw3	DR3	Dw3
DPw4	DQw4	DR4	Dw4
DPw5	DQw5 (w1)	DR5	Dw5
DPw6	DQw6 (w1)	DRw6	Dw6
	DQw7 (w3)	DR7	Dw7
	DQw8 (w3)	DRw8	Dw8
	DQw9 (w3)	DR9	Dw9
		DRw10	Dw10
		DRw11 (5)	Dw11 (w7)
		DRw12 (5)	Dw12
		DRw13 (w6)	Dw13
		DRw14 (w6)	Dw14
		DRw15 (2)	Dw15
		DRw16 (2)	Dw16
		DRw17 (3)	Dw17 (w7)
		DRw18 (3)	Dw18 (w6)
			Dw19 (w6)
		DRw52	Dw20
		DRw53	Dw21
			Dw22
			Dw23
			Dw24
			Dw25
			Dw26

Cuadro 2.1 (Continuación). Especificidades de los antígenos de Clase II conocidas hasta 1987 (83).

2.5. PRUEBAS DE MICROLINFOCITOTOXICIDAD PARA TIPIFICACION HLA.

La técnica de microlinfocitotoxicidad es una reacción serológica dependiente de complemento cuyo punto final es la muerte celular. Es usada para tipificaciones HLA o para la determinación de estados de presensibilización.

Para propósitos de tipificación, el primer paso de la reacción consiste en mezclar e incubar una suspensión de linfocitos, obtenidos a partir de sangre periférica, con un suero que contiene anticuerpos contra el antígeno HLA que va a probarse. La unión entre el anticuerpo y los antígenos de la superficie celular ocurre en esta fase de la reacción.

En el segundo paso, se agrega un exceso de complemento de conejo y se incuba nuevamente. En este período el complemento se activa, la membrana de los linfocitos se lesiona, produciéndose finalmente la muerte de éstos, la cual es detectada utilizando un colorante vital. Si el antígeno específico para el suero tipificador está ausente del linfocito, el anticuerpo no se une, el complemento no se activa y la célula sobrevive al proceso sin que su membrana sea dañada.

En el procedimiento estándar, 1 μ l de suero se mezcla con 1 μ l de una suspensión de linfocitos que contenga 2×10^6

células / ml (2000 células / ml).

La proporción relativa entre células muertas y células vivas es determinada con ayuda de un microscopio de contraste de fases y se expresa en por ciento. Con la iluminación de este tipo de microscopio las células muertas aparecen opacas, mientras que las vivas aparecen refringentes. La adición del colorante supravital acentúa esta diferencia y simplifica la lectura. Los colorantes utilizados habitualmente son eosina Y y azul tripano. Al final se añade formalina para fijar la reacción permanentemente y poder así conservarla durante tiempo indefinido. Puesto que siempre hay un cierto grado de muerte celular debida al traumatismo que sufren los linfocitos durante su preparación, es necesario correr simultáneamente controles negativos (3).

Una variación de esta técnica involucra el uso de una globulina anti-humana para intensificar la unión del anticuerpo al antígeno celular y lograr con ésto una activación del complemento más eficiente (3).

2.6. CULTIVO MIXTO DE LINFOCITOS.

Se sabe que los linfocitos son capaces de responder, "in vitro", a una amplia variedad de estímulos, entre los que se

incluyen las lectinas, tales como, la fitohemaglutinina y la concanavalina A. Los linfocitos estimulados responden incrementando su contenido de proteínas, DNA y RNA, si se encuentran en un medio que contenga todos los nutrientes y precursores necesarios. Este proceso es conocido como blastogénesis (3).

Otro de los estímulos que puede inducir blastogénesis es el contacto con linfocitos de otro individuo. Este es precisamente el hecho en el cual se fundamenta el cultivo mixto de linfocitos: una población de linfocitos T de un individuo inmunológicamente competente, al reconocer, "in vitro", antígenos de histocompatibilidad clase II en la superficie de los linfocitos B de un segundo individuo, responde transformándose blastogénicamente. Para medir el grado de transformación se añade al cultivo, después de un primer período de incubación, un precursor de DNA marcado radiactivamente, como puede ser timidina tritiada. Sólo las células que se encuentran en blastogénesis incorporan la timidina tritiada en cantidad apreciable. Después de un segundo período de incubación, las células se cosechan y se mide la radiación incorporada, en cpm (cuentas por minuto), en un contador de centelleo. La cantidad de timidina tritiada incorporada es directamente proporcional al grado

de transformación blastogénica producida. La interacción linfocito-linfocito no resulta en blastogénesis si las poblaciones linfocíticas provienen de individuos iguales en el locus D, es decir, si comparten los mismos antígenos de clase II (3).

Cuando este procedimiento fué introducido, era extremadamente difícil de interpretar. Los linfocitos de un individuo reconocían los antígenos de los linfocitos del otro individuo y respondían, pero era imposible determinar la dirección en la cual se producía la respuesta. Este problema fué resuelto al introducir métodos para inhibir la capacidad de respuesta de los linfocitos sin afectar su poder inmunogénico, es decir, su capacidad de estimular la transformación blastogénica de una segunda población de linfocitos. Para hacer un cultivo unidireccional, una de las dos poblaciones de linfocitos se trata con radiaciones gamma o con mitomicina C, para que funcione únicamente como población "estimuladora", mientras que, la segunda población, "respondedora", no recibe tratamiento alguno (3).

El uso principal del cultivo mixto de linfocitos es la selección de donadores compatibles para trasplante. Se ha encontrado una buena correlación entre la sobrevida del injerto y una respuesta débil o negativa en el cultivo.

principalmente cuando donador y receptor son consanguíneos (14).

El mejor método para expresar resultados es el índice de respuesta relativa (RR) (14). Este índice se basa en la consideración de respuestas:

- a. máxima, que es la obtenida con un "pool" de donadores no relacionados,
- b. mínima, que es la obtenida con el testigo y,
- c. problema, que es la obtenida con cada uno de los donadores potenciales.

Esta serie de respuestas se relacionan por medio de la siguiente fórmula:

$$RR = \frac{\text{cpm problema} - \text{cpm testigo}}{\text{cpm "pool"} - \text{cpm testigo}} \times 100$$

Con este método se intenta cuantificar la reacción celular y es especialmente evidente en cultivos intrafamiliares, en los cuales se obtiene: RR menor de 5 % cuando donador y receptor son HLA-idénticos, RR mayor de 50% cuando son haploidénticos y RR cercana a 100 % cuando son haplodistintos (14).

3. TRASPLANTES.

La técnica y metodología empleadas en la realización de los trasplantes de órganos hace tiempo que han dejado el laboratorio de investigación biomédica para incorporarse plenamente a la práctica médica contemporánea. El trasplante de órganos es una opción más con la que cuenta el médico en su afán de buscar alivio al dolor, la enfermedad e incluso la muerte (78).

La era moderna del trasplante de órganos se inicia en la década de los sesentas al introducirse el uso de inmunosupresores para el tratamiento de pacientes trasplantados (89). En un inicio sólo se realizaban trasplantes de riñón, pero con el paso de los años los trasplantes de médula ósea, corazón, pulmón, hígado y páncreas han ido ganando aceptación como métodos terapéuticos, sin embargo, el obstáculo principal, el rechazo, no ha podido ser vencido (14).

3.1 TRASPLANTE RENAL.

Cuando el trasplante renal se convirtió en una realidad como tratamiento para pacientes con insuficiencia renal crónica existían ya pruebas convincentes de que los antígenos del sistema HLA estaban involucrados en el éxito o

fracaso de los injertos. Debido a esto, la similitud HLA fue utilizada para determinar la compatibilidad entre donador y receptor (14).

Los diversos estudios de trasplantes han demostrado que hay una mejor sobrevida de los injertos cuando donador y receptor son HLA-identicos (2 haplotipos iguales), que cuando son haploidenticos (1 haplotipo igual) o haplodistintos (0 haplotipos iguales) (14, 95).

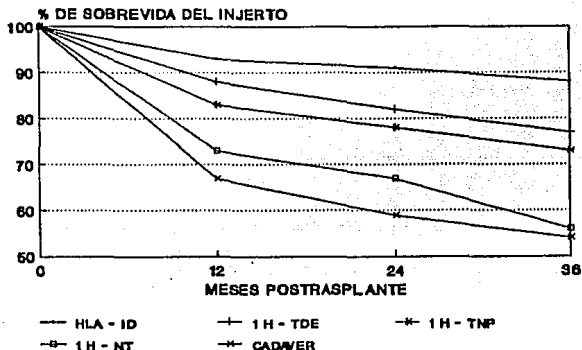
Tambi6n ha quedado establecido que la sobrevida de los injertos puede ser mejorada si los pacientes son sometidos a un protocolo de transfusiones de donador especifico, principalmente cuando no hay similitud HLA entre donador y receptor (10, 20, 67, 95).

El protocolo de transfusiones de donador especifico consiste en hacer 3 transfusiones de 100-200 ml de paquete globular lavado, en la mayoria de los casos, una cada 15 dias iniciando 60 dias antes de la fecha del trasplante. La sangre es obtenida del mismo individuo que va a donar el ri6n. El uso de este protocolo presenta algunas desventajas, entre las que podemos incluir: riesgo de aloinmunizaci6n a leucocitos, plaquetas y eritrocitos y/o transmisi6n de enfermedades (95, 96).

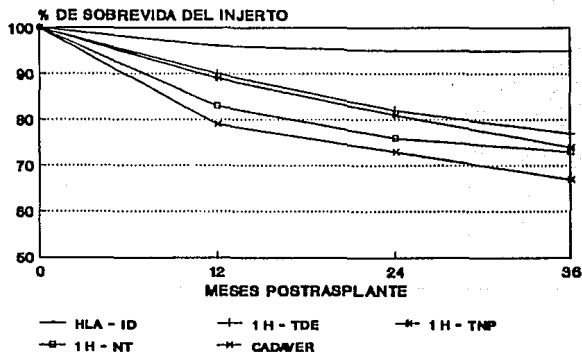
Con la utilización de ciclosporina A, como inmunosupresor, se han alcanzado porcentajes de sobrevida de los injertos superiores a los obtenidos con donadores HLA similares y el protocolo de transfusiones de donador específico (20, 29, 66, 67).

En las gráficas 3.1 A y 3.1 B se presentan los resultados obtenidos en más de 35 000 trasplantes renales realizados entre 1982 y 1987 en 240 hospitales de 38 países tomando en cuenta: similitud HLA, transfusiones de donador específico y uso de ciclosporina A (66).

A) SIN CICLOSPORINA



B) CON CICLOSPORINA

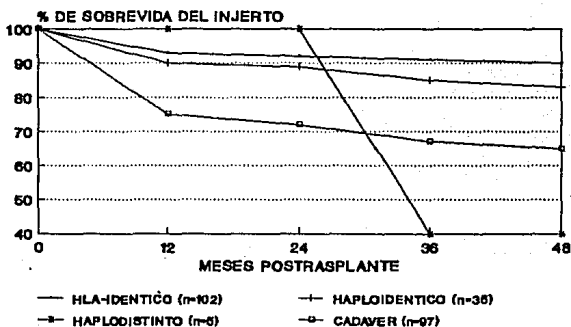


Opelz G., 1988.

Gráfica 3.1. Sobrevida de injertos en pacientes (A) sin o (B) con tratamiento con ciclosporina. Las curvas representan parejas: HLA-identicas (HLA-ID), haploidenticas con transfusiones de donador especifico (1H-TDE), haploidenticas con transfusiones no protocolizadas (1H-TNP), haploidenticas sin transfusiones (1H-NT) y haplodistintas (CAD).

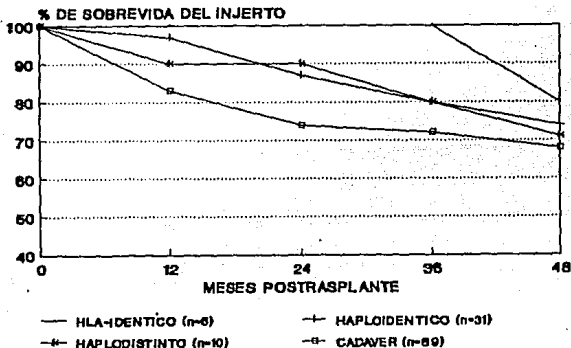
La ciclosporina A se ha incorporado a varios protocolos de inmunosupresión y se ha encontrado que con la terapia a base de ciclosporina A + azatioprina + prednisona (triple terapia) se obtienen los más altos índices de supervivencia de los injertos, en comparación con los obtenidos con otros protocolos de inmunosupresión: globulina anti-linfocito + azatioprina + prednisona y ciclosporina A + prednisona (48).

GLOBULINA ANTI-LINFOCITO + AZATIOPRINA + PREDNISONA

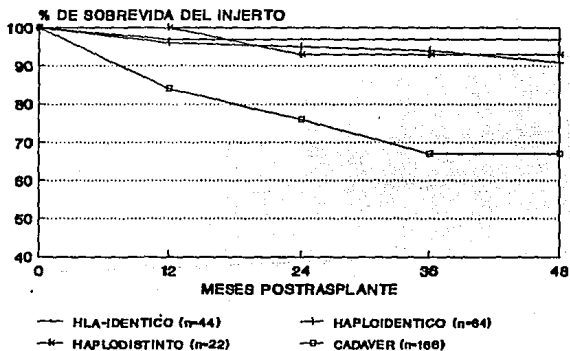


Kaufman D. B., 1989.
 Gráfica 3.2 Supervivencia de injertos en receptores de riñón de donador vivo relacionado: HLA-identico, haploidentico, haplodistinto y de donador cadáver de acuerdo a diferentes protocolos de inmunosupresión.

CICLOSPORINA + PREDNISONA



CICLOSPORINA + AZATIOPRINA + PREDNISONA



Kaufman D. B., 1989.
 Gráfica 3.2 (Continuación) Sobrevida de injertos en receptores de riñón de donador vivo relacionado: HLA-identico, haploidentico, haplo-distinto y de donador cadáver de acuerdo a diferentes protocolos de inmunosupresión.

Por lo que respecta a órganos trasplantados a partir de donador cadáver se ha encontrado que la similitud HLA-B, HLA-DR y HLA-DQ, con respecto al receptor, es importante para conseguir una mejor sobrevida de los injertos (Ver tablas 3.1, 3.2 y 3.3). La similitud HLA-A parece no ser tan importante en ese aspecto (25, 84, 99).

Tabla 3.1. Sobrevida de los injertos y diferencias en los antígenos HLA-B y HLA-DR en trasplantes de cadáver.
Dyer P. A., 1989.

	No. de trasplantes	% de sobrevida de los injertos		
		1 año	5 años	10 y 9 años
Diferencias en HLA-B				
				10 años:
0	221	69.8	59.2	49.2
1	484	69.7	53.7	36.3
2	86	57.8	47.4	44.0
Diferencias en HLA-DR				
				9 años:
0	170	78.8	71.9	71.9
1	252	77.0	61.7	58.0
2	112	67.7	55.0	53.5

Tabla 3.2. Sobrevida de injertos y diferencias en los antígenos HLA-B + HLA-DR en trasplantes de cadáver.
Dyer P. A., 1989.

Diferencias en HLA B + DR	No. de trasplantes	% de sobrevida de los injertos		
		1 año	5 años	7 años
0	31	85.9	85.9	85.9
1	174	75.4	62.2	62.2
2	235	79.2	63.5	61.0
3	81	62.4	53.8	51.4
4	13	69.2	41.5	41.5

Tabla 3.3. Sobrevida de los injertos y diferencias en los antígenos HLA DQ + DR en trasplantes de cadáver.
Sengar D. P. S., et al., 1989.

Diferencias en:	No. de trasplantes	% de sobrevida de injertos		
		3 meses	6 meses	12 meses
0 DQ + 0-1 DR	24	95.8	87.5	66.7
0 DQ + 2 DR	4	100.0	100.0	75.0
1 DQ + 0-1 DR	24	83.3	75.0	62.5
1 DQ + 2 DR	37	67.6	56.8	51.4

3.2 TRASPLANTE DE MEDULA OSEA.

El trasplante de médula ósea constituye una opción más en el tratamiento de pacientes con anemias aplásicas, neoplasias, tumores malignos sólidos, etc..

Es una de las técnicas clínicas más difíciles por varias razones. En primer lugar, en el momento del trasplante, la mayor parte de los receptores se hallan casi completamente inmunodeprimidos, lo cual impide que su sistema inmunológico rechace la médula ósea del donador. El tratamiento citotóxico, previo al trasplante, al que son sometidos los pacientes, elimina los leucocitos circulantes, la mayor parte de las plaquetas y abate la formación de nuevos eritrocitos. Por lo tanto, los hace muy susceptibles a cualquier tipo de infección, que puede llevarlos a la muerte. El segundo riesgo importante es la posibilidad de enfermedad injerto contra huésped, la cual se presenta en varias formas y resulta a menudo fatal. Pese a estas dificultades, el procedimiento se lleva a cabo con éxito en muchos centros hospitalarios (14), sin embargo, solamente el 30-40 % de los pacientes que pueden beneficiarse con este tratamiento tienen un donador relacionado adecuado para tal efecto. Consecuentemente, muchos centros han comenzado a explorar el uso de donadores no relacionados (12).

Una diferencia importante entre donadores no relacionados y relacionados con sus respectivos receptores es que, en las parejas donador-receptor no relacionados, la similitud HLA sólo garantiza una limitada identidad fenotípica. En cambio, en donadores relacionados HLA-identicos, puede considerarse que existe una homología HLA de fondo debido a que los genes de este sistema se heredan en haplotipos, y por lo tanto, puede existir también homología en antígenos de histocompatibilidad no-HLA que son codificados por genes distantes y que no pueden ser identificados por la tecnología de tipificación habitual. En individuos no relacionados HLA-similares hay una gran probabilidad de que existan más diferencias en antígenos no-HLA que en las parejas donador-receptor relacionados, puesto que no poseen la misma carga genética familiar (44).

En EEUU se está elaborando un registro de donadores voluntarios tipificados por HLA que puedan ser utilizados como donadores de médula ósea. Sin embargo, debido al gran polimorfismo del sistema HLA, no será posible encontrar donadores similares para algunos pacientes (12).

En la Tabla 3.4 se muestran datos comparativos de trasplantes de médula ósea realizados, a partir de donadores relacionados y no relacionados, a pacientes con leucemia y aplasia medular.

Tabla 3.4. Enfermedad injerto contra huésped (GVHD) y sobrevida de los receptores de médula ósea de donadores relacionados y donadores no relacionados.

Beatty P. G., et al., 1989.

	Donador no relacionado	Donador relacionado
GVHD Grados II-IV	74 %	46 %
GVHD Grados III-IV	31 %	22 %
Día en que se alcanzó una cuenta de 1 000 granulocitos / μ l	23	23
Sobrevida a 100 días:		
Pacientes con anemia aplásica	57 %	100 %
Pacientes con leucemia	69 %	73 %

Se puede ver que la enfermedad injerto contra huésped se presenta en mayor proporción en pacientes que reciben médula ósea de donadores no relacionados, pero, a pesar de eso, la sobrevida a 100 días en ambos grupos de pacientes es muy similar (11).

A diferencia de lo que sucede con los trasplantes de riñón, los pacientes que reciben trasplantes de médula ósea tienen una tasa de sobrevida a corto plazo muy baja (Ver tabla 3.5), sin embargo, las causas de muerte de los pacientes pueden ser potencialmente solucionadas logrando con éso incrementar la sobrevida (28).

Tabla 3.5. Sobrevida de los receptores de médula ósea.
Gingrich R. D., et. al., 1988.

		6 meses	12 meses	actualmente *
N	40	11	8	6
%	100	27.5	20.0	15.0

* 36, 33, 32, 26, 23 y 17 meses postrasplante.

3.3. DONADORES.

3.3.1 DONADOR VIVO RELACIONADO Y DONADOR VIVO NO RELACIONADO.

Desde los años cincuentas se utilizan como proveedores de órganos (riñones) los donadores vivos relacionados, generalmente padres, hermanos o hijos de los receptores. La utilización de este tipo de donadores presenta las siguientes ventajas:

- Se logran mejores sobrevidas del paciente y el injerto.
- Se evita la espera excesiva de un riñón procedente de donador cadáver.
- Se dispone de tiempo suficiente para realizar un estudio de histocompatibilidad completo.
- Se eliminan las complicaciones de la preservación de órganos.
- Se puede programar la cirugía.
- Se logra una disminución en el uso de inmunosupresores cuando se encuentra un donador muy similar.

Sin embargo, existen riesgos a corto y largo plazos que

deben también ser considerados:

-Riesgos a corto plazo. La nefrectomía del donador es una cirugía mayor que puede tener complicaciones, las más frecuentes son embolia pulmonar e infección de las heridas. La tasa de morbilidad es de 0.06 %. Se han observado también depresión postoperatoria y trauma psicológico en algunos donadores, particularmente cuando el órgano trasplantado es rechazado.

-Riesgos a largo plazo. Se ha reportado una prevalencia incrementada de hipertensión en donadores de riñón, sin embargo, esto no ha sido suficientemente documentado. Se ha encontrado también un ligero incremento en la excreción de proteínas en orina. El aclaramiento de creatinina se ve un poco disminuido. La sobrevida de los donadores nefrectomizados es la misma que la de la población normal (88).

En suma, los riesgos de utilizar a donadores vivos como proveedores de riñón son pequeños en comparación con los beneficios que pueden obtener los receptores. Por lo tanto, es justificable el uso de donadores vivos (88).

Una forma de incrementar el número de riñones disponibles para trasplante sería el uso de donadores vivos no relacionados, sin embargo, en muchos centros hospitalarios no se acepta su utilización a pesar de que muchos individuos

desean donar un riñón, por motivos puramente altruistas, a personas no relacionadas. Sólo en algunos países donde la utilización de riñones de donador cadáver no es aceptada por razones socioculturales, se han utilizado donadores vivos no relacionados con buenos resultados (1, 38).

3.3.2 DONADOR CADAVER.

El uso de inmunosupresores permite efectuar trasplantes sin poner en riesgo la salud de donadores vivos, tomando como fuente de órganos a individuos con diagnóstico de muerte cerebral.

La Ley General emitida por la Secretaría de Salud estipula en su Título Decimocuarto el control sanitario de la disposición de órganos, tejidos y cadáveres de seres humanos. De éste, destacan los artículos 317 y 318, los cuales establecen que:

Artículo 317. Para la certificación de la pérdida de la vida deberá comprobarse previamente la existencia de los siguientes signos de muerte:

- I. La ausencia completa y permanente de conciencia.
- II. La ausencia permanente de respiración espontánea.
- III. La falta de percepción y respuesta a los estímulos externos.
- IV. La ausencia de los reflejos de los pares craneanos y

de los reflejos medulares.

V. La atonía de todos los músculos.

VI. El término de la regulación fisiológica de la temperatura corporal.

VII. El paro cardíaco irreversible.

VIII. Los demás que establezca el reglamento correspondiente.

Artículo 318. En el caso de trasplantes, para la correspondiente certificación de pérdida de la vida, deberá comprobarse la persistencia por doce horas de los signos a que se refieren las fracciones I, II, III y IV del artículo 317 y, además, las siguientes circunstancias:

I. Electroencefalograma isoelectrico que no se modifique con estímulo alguno dentro del tiempo indicado.

II. Ausencia de antecedentes inmediatos de ingestión de bromuros, barbitúricos, alcohol y otros depresores del sistema nervioso central o hipotermia.

La ley establece que en toda toma de órganos y tejidos se requiere el consentimiento expreso y por escrito del disponente originario, libre de coacción física o moral, otorgado ante notario o documento expedido con dos testigos idóneos.

Además la ley establece que hay dos tipos de disponentes:

1. Originario, cuando el propio paciente dispone de su cuerpo.

2. Secundario, cuando el familiar más cercano en el momento de la muerte dispone del paciente (cónyuge, concubina, familiares ascendentes, descendentes, parientes colaterales hasta el segundo grado del disponente originario) (78).

Además de lo antes mencionado el cadáver debe reunir los siguientes requisitos (23):

-Edad máxima de 50 años, aunque estudios recientes (65, 73, 80, 92) han demostrado que se pueden obtener resultados satisfactorios utilizando riñones obtenidos de individuos mayores de 55 años.

-Ausencia de datos de hipertensión arterial, bacteremia, septicemia o tumores malignos.

-Niveles sanguíneos de glucosa, nitrógeno de urea y creatinina dentro de los valores de referencia.

-Examen general de orina normal.

-Urocultivo negativo.

-Prueba de VIH negativa.

3.3.3 DONADORES ANENCEFALICOS.

Recientes estudios han hecho posible que se lleven a cabo trasplantes de corazón, riñón e hígado en recién nacidos y

niños pequeños (6, 56), pero la escasez de órganos suficientemente pequeños para tal efecto los han limitado. Debido a que el 95 % de los infantes anencefálicos mueren durante la primera semana de vida, éstos han sido considerados como donadores potenciales de órganos pequeños (51, 56, 70). Bajo las leyes actuales (en EEUU) estos infantes no pueden ser utilizados como donadores hasta que la actividad cerebral haya cesado, es decir, hasta que se produzca la muerte cerebral. Esto ocasiona, en la gran mayoría de los casos, que los órganos , al momento de producirse la muerte, no sean adecuados para trasplante ya que sufren daños irreversibles debidos a la hipoxia tisular que se produce durante la agonía (56, 70, 81).

En algunos centros hospitalarios de Inglaterra y Alemania se considera que los infantes anencefálicos forman un grupo especial que debe manejarse con un criterio diferente y, por lo mismo, pueden utilizarse como donadores de órganos aún cuando no reúnan todos los criterios necesarios para diagnosticar muerte cerebral (6, 100). Esto ha ocasionado gran controversia y las opiniones al respecto son muy variadas (6, 37, 57, 85).

3.3.4 DONADORES FETALES.

El tejido fetal ha sido una herramienta de gran valor en investigación desde la década de los treinta, como fuente

de líneas celulares humanas. Más recientemente, las investigaciones se han encaminado al trasplante de tejido fetal en individuos vivos para propósitos terapéuticos. Tres propiedades hacen al tejido humano fetal particularmente útil para trasplante: crece muy rápidamente, es muy adaptable y, cuando se trata adecuadamente, genera poca o ninguna respuesta inmune en el receptor (36).

Debido a esas propiedades, los trasplantes de tejido humano fetal se han usado experimentalmente en el tratamiento de varias enfermedades como: mal de Parkinson, diabetes y anemia inducida por radiación (5, 36).

Los tejidos de fetos obtenidos de abortos electivos son más adecuados para trasplante que los de abortos espontáneos, ya que, en un gran porcentaje, éstos últimos presentan anomalías cromosómicas, además de que están asociados a infecciones ocasionadas por una gran variedad de microorganismos, entre los que se encuentran: citomegalovirus, herpes simple tipos 1 y 2, rubéola y toxoplasma (5).

En EEUU, el uso de tejido humano fetal está sujeto a restricciones legales y éticas:

-El equipo de investigadores no debe tener relación con el equipo médico que realiza el aborto.

-Esta prohibida cualquier tipo de remuneración para la madre del producto y para el equipo médico que realiza el aborto.

-La decisión de abortar debe haber sido tomada antes de determinar el uso que se le va a dar al tejido fetal.

-Deben mantenerse en el anonimato las identidades de donador y receptor.

-El método de aborto y la etapa del embarazo en que se realice no deben ser influenciados por el uso potencial que pudiera darse al tejido fetal.

-El consentimiento de la mujer embarazada es necesario y suficiente para disponer del tejido, a menos que exista oposición por parte del padre (5, 36, 46, 49).

3.3.5 LOS ANIMALES COMO DONADORES DE ORGANOS.

Los trasplantes xenogeneicos (trasplante de órganos o tejidos de una especie a otra), en humanos, se realizaron por vez primera durante la década de los sesentas, siendo los primates la fuente de obtención de los órganos. Sin embargo, el auge de los donadores cadavéricos humanos y el hecho de no haber logrado sobrevivida de los xenotrasplantes durante tiempo prolongado hicieron que el entusiasmo por este tipo de trasplantes decayera (7).

Riñones, hígados y corazones de primates se utilizaron

para trasplantar a humanos sin alcanzar en ningún caso, sobrevida a un año. A pesar de esto, hay tres observaciones (7) que sugieren que en la actualidad, con los avances que se han logrado, se podría alcanzar sobrevida de los xenotrasplantes a largo plazo:

1. Los órganos animales funcionaron bien en los humanos, aunque por períodos cortos.

2. Los episodios de rechazo fueron eliminados por los mismos métodos que se utilizan para eliminar el rechazo de alotrasplantes.

3. Se logró sobrevida de los trasplantes durante varios meses aún cuando los métodos de inmunosupresión no habían logrado un gran desarrollo.

3.4. TRANSFUSIONES DE PLAQUETAS.

La gran mayoría de los enfermos de hipoplasia medular tienen como una de sus complicaciones más frecuentes la presencia de sangrado. La habilidad para suministrar una efectiva transfusión de plaquetas es uno de los puntos clave en el tratamiento de tales pacientes, ya que, con mucha frecuencia son pacientes aloinmunizados (55), refractarios a la terapia con plaquetas.

La refractariedad a la terapia con plaquetas puede estar

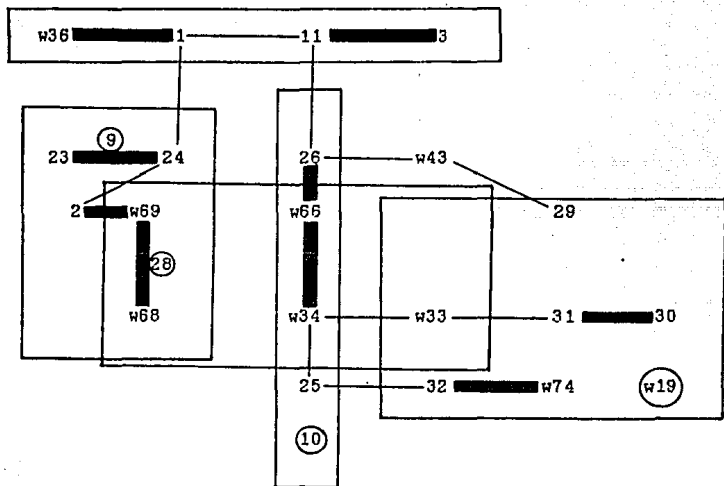
mediada inmunológicamente o puede tener causas no inmunológicas (18). Las causas no inmunológicas son principalmente: fiebre, infección, sangrado, coagulopatía y esplenomegalia (39). Las causas inmunológicas son la presencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos HLA o contra antígenos específicos de plaquetas como: Pl^{A1}, Bak^a, Lek^a, Pl^{E1}, Ko^a y DUZO^a (55).

En los pacientes aloinmunizados, las plaquetas transfundidas son rápidamente destruidas por anticuerpos dirigidos en contra de los antígenos presentes en la superficie de aquéllas. La aloinmunización se produce en más del 50 % de los pacientes que reciben transfusiones de plaquetas (39, 55), ya que, la respuesta inmune contra antígenos del sistema HLA es establecida en un período de tiempo relativamente corto y no depende del número de transfusiones de plaquetas recibidas (55).

Las plaquetas que poseen antígenos HLA similares a los del paciente, colectadas por plaquetoféresis, son una herramienta invaluable en el tratamiento (19). Por eso mismo, es de vital importancia encontrar donadores que compartan los mismos antígenos HLA-A y HLA-B del paciente. Los antígenos HLA-C y HLA-DR no están expresados o sólo lo están débilmente en la superficie de las plaquetas, por lo

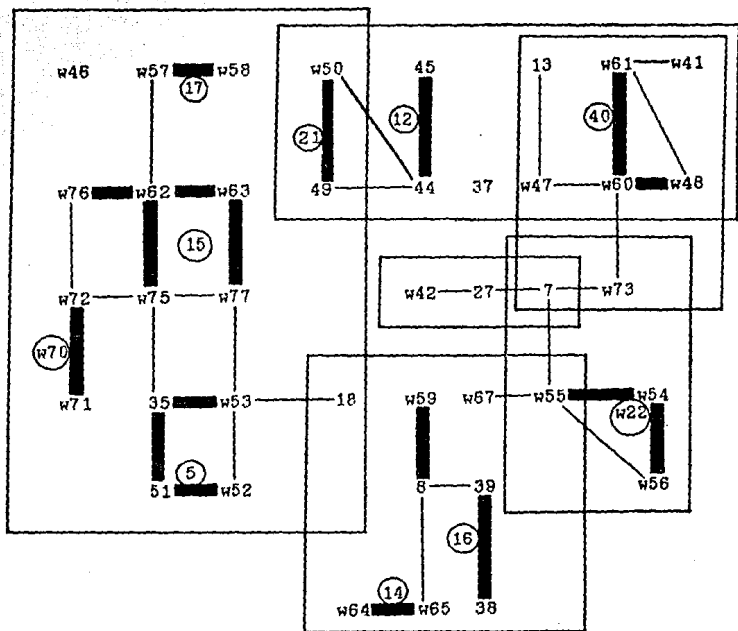
tanto, no son de importancia en las transfusiones de plaquetas.

La probabilidad de encontrar un donador que comparta los mismos antígenos HLA-A y HLA-B que el receptor (donador perfecto) entre hermanos, es de un 25 %, mientras que la probabilidad de encontrarlo entre individuos no relacionados depende de la frecuencia con la cual los antígenos involucrados están expresados en la población. Como la probabilidad de encontrar "donadores perfectos" en individuos no relacionados es muy baja, se pueden utilizar donadores cuyos antígenos HLA-A y HLA-B pertenezcan a los mismos grupos de reactividad cruzada que los antígenos del receptor (Ver tablas 3.6.1 y 3.6.2), ya que, estos antígenos pueden no ser reconocidos como extraños y se pueden obtener, a partir de estos donadores, plaquetas para transfusiones igualmente efectivas que las de "donadores perfectos" (55). Sin embargo, a pesar de obtener plaquetas de "donadores perfectos" más del 20 % de los pacientes transfundidos no responden adecuadamente al tratamiento (19) debido a la presencia concomitante de otros factores que no son siempre de tipo inmunológico.



- █** Reactividad cruzada alta
- Reactividad cruzada
- ▭ Grupos de reactividad cruzada
- Supertipo y sus subtipos

Schreuder I., 1988.
 Tabla 3.6.1. Reactividad cruzada en el locus A.



Schreuder I., 1988.
 Tabla 3.6.2. Reactividad cruzada en el locus B.

3.5. DETERMINACION DE ESTADOS DE PRESENSIBILIZACION.

La prueba cruzada para detectar anticuerpos preformados dirigidos contra antígenos HLA es esencial para prevenir el rechazo hiperagudo de tejidos trasplantados, ya que, la positividad en una prueba cruzada es considerada, en la mayoría de los centros hospitalarios donde se realizan trasplantes, como contraindicación absoluta para trasplantar. Aunque, actualmente se sabe que una prueba cruzada positiva no necesariamente determina el rechazo hiperagudo de un injerto (97), al igual que una prueba cruzada negativa no garantiza que el rechazo hiperagudo no se vaya a presentar (9). Existen varias técnicas para determinar estados de presensibilización, dentro de las cuales podemos incluir: microlinfocitotoxicidad (3), fluorescencia (3) y citometría de flujo (4, 21, 22, 26, 45, 91).

3.5.1. MICROLINFOCITOTOXICIDAD.

La prueba de microlinfocitotoxicidad (3), similar a la utilizada para tipificación HLA, es la técnica más comúnmente utilizada para detectar anticuerpos contra antígenos HLA. Consiste en mezclar e incubar a 37 °C varias diluciones de suero del receptor con linfocitos del donador. Los anticuerpos activos a esta temperatura, que son los de

interés clínico, en caso de estar presentes, se unen a los linfocitos y, en una segunda incubación, en la cual se adiciona complemento de conejo, dañan su membrana. Al final se realiza la tinción con eosina Y ó azul tripano y se fija con formaldehído. La lectura se realiza con un microscopio de contraste de fases de igual manera que en la tipificación (3). Una modificación a esta técnica consiste en utilizar suero del receptor tratado con DTT ((-)-1,4-Ditio-L-treitol) que elimina anticuerpos de clase IgM que no intervienen en el rechazo de injertos, pero que son capaces de dar resultados falsamente positivos en las pruebas de compatibilidad (96).

3.5.2. FLUORESCENCIA.

La técnica de fluorescencia (3) es una modificación a la técnica de microlinfocitotoxicidad en dos etapas que se realiza habitualmente. Aquí, los linfocitos son tratados con diacetato de fluoresceína después de su purificación y poco antes de ser utilizados en la prueba. El diacetato de fluoresceína es incorporado fácilmente por los linfocitos vivos. Una enzima existente en el citoplasma de los linfocitos transforma esta sustancia en fluoresceína, que es un compuesto que produce una fluorescencia de color verde bajo la luz ultravioleta.

La prueba es realizada de la manera habitual utilizando las células fluoresceinadas. Si hay anticuerpos presentes en el suero del receptor se unirán a la membrana de los linfocitos del donador y la lesionarán al activarse el complemento, permitiendo con ésto la salida del compuesto fluorescente. Por otro lado, si no hay anticuerpos específicos los linfocitos permanecerán intactos y retendrán el compuesto fluoresceinado. Finalmente se añade otro compuesto fluorescente: el bromuro de etilo, que es un compuesto que tiene afinidad por el DNA y es particularmente útil para teñir células muertas. Este compuesto penetra en las células a través de la membrana dañada y fluoresce, bajo la luz ultravioleta, con un color rojo intenso. De esta manera, las células vivas aparecen de color verde y las muertas de color rojo.

La lectura se hace comparando el grado de muerte celular de los problemas con respecto a los controles negativo y positivo, de manera directa o con ayuda de un equipo automatizado.

3.5.3. CITOMETRIA DE FLUJO.

La citometría de flujo (4, 21, 26, 45, 93, 97) surgió como una alternativa en la búsqueda de técnicas más

sensibles para detectar anticuerpos contra antígenos HLA. La citometría de flujo es 100 veces más sensible (4, 26) que las otras técnicas utilizadas para detectar anticuerpos en los receptores de trasplantes y, además, es una técnica que nos permite distinguir anticuerpos dirigidos contra antígenos de linfocitos T de anticuerpos dirigidos contra antígenos de linfocitos B sin necesidad de separar las subpoblaciones celulares, si se realiza fluorescencia de dos colores.

La técnica de citometría de flujo con fluorescencia de dos colores se realiza como se describe a continuación: se mezclan e incuban linfocitos del donador con suero del receptor, con suero control positivo y con suero control negativo. Siguiendo a esta incubación, se lavan los linfocitos y se les adicionan fragmentos F(ab') de anti-globulina humana marcados con rodamina, se incuba nuevamente. Se lava y adiciona un conjugado de ficoeritrina-anticuerpo monoclonal anti-CD3 (para limitar la reacción a linfocitos T). Finalmente, se lavan los linfocitos y se resuspenden en amortiguador. Los linfocitos suspendidos en el medio líquido son inyectados al citómetro de flujo. Este contiene una lámpara cuyo haz de luz se hace incidir sobre el fluido inyectado. Cada célula interactúa con el haz de luz produciendo un cierto grado de desviación.

Simultáneamente, las moléculas fluorescentes unidas a la membrana de los linfocitos son excitadas para emitir fluorescencia. La desviación de la luz y la emisión de fluorescencia son convertidas en señales electrónicas que caracterizan cada célula (26).

En base a los resultados obtenidos, se puede determinar si existen anticuerpos en el suero del paciente, si están dirigidos contra linfocitos T ó contra otro tipo de células, ó si no hay anticuerpos detectables.

Se ha observado que la citometría de flujo es una técnica más efectiva cuando se utiliza en pacientes que han tenido algún rechazo ó que tienen anticuerpos reactivos con más del 10 % de un panel de linfocitos que tienen antígenos de alta frecuencia, es decir, pacientes sensibilizados (22, 37).

3.6. INMUNOSUPRESION.

3.6.1. CICLOSPORINA A.

Antes de la aparición de la ciclosporina A la inmunosupresión estaba restringida esencialmente a azatioprina (74) y prednisona (75). Otras terapias fueron adicionadas al uso de azatioprina y prednisona en un intento por mejorar la sobrevida de los injertos, éstas

incluían el uso de ciclofosfamida, bredinina, esplenectomía, irradiación del injerto y timentomía, pero no se lograron obtener efectos benéficos y, por el contrario, se presentaban complicaciones adicionales (58).

El descubrimiento de la potencia inmunosupresora de la ciclosporina A (17, 35, 103) y su introducción en la clínica condujeron a una nueva era en el campo de los trasplantes de órganos. Sin embargo, a medida que se ampliaba el uso de la ciclosporina A fueron más evidentes sus efectos secundarios, siendo el más serio la nefrotoxicidad (61, 79). Como la mayoría de los efectos secundarios parecían estar relacionados con la dosis, se diseñaron varios protocolos en los cuales se usaban dosis más bajas de ciclosporina A con ó sin uso concomitante de otras drogas con el objetivo de mantener la potencia inmunosupresora de la ciclosporina A, pero disminuyendo la incidencia de efectos secundarios (58, 101) (Ver tabla 3.7).

ciclosporina A
ciclosporina A + prednisona
ciclosporina A + azatioprina
ciclosporina A + azatioprina + prednisona
ciclosporina A + azatioprina + prednisona + globulina
anti-linfocítica

Tabla 3.7. Protocolos de inmunosupresión que incluyen ciclosporina A.

Morris P. J., 1989.

3.6.2. FK-506.

De los nuevos inmunosupresores, el FK-506 parece tener, por una parte, poder inmunosupresor superior al de la ciclosporina A, y por otra, capacidad de actuar sinérgicamente con ella para disminuir los episodios de rechazo. Sin embargo, sólo se ha estudiado en ratas, perros y primates de laboratorio, faltando aún experimentar en la clínica para introducirla definitivamente (53, 59, 89, 98, 104).

3.6.3. ANTICUERPOS MONOCLONALES ANTI-CD3.

La inmunobiología molecular también participa actualmente en la terapia inmunosupresora. Los anticuepos monoclonales que prometen una inmunosupresión específica con mínimos efectos secundarios son producto de esta tecnología.

Algunos anticuerpos monoclonales dirigidos contra moléculas específicas de los linfocitos T han sido utilizadas para tratar o prevenir el rechazo de órganos trasplantados. El anticuerpo más ampliamente usado en el trasplante clínico es el anti-CD3 que ha demostrado tener una eficiencia superior a la de los esteroides (prednisona) para revertir los episodios de rechazo agudo. Sin embargo, debido a que la mayoría de los pacientes presentan "reacción

a la primera dosis", con síntomas de moderados a severos, y a la inducción de IgG dirigida contra el anti-CD3, la terapia inmunosupresora a base de anti-CD3 no ha sido muy difundida (64).

3.7. ENFERMEDADES ASOCIADAS A LOS TRASPLANTES.

3.7.1. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR MEDIO DE LOS ORGANOS TRASPLANTADOS.

Los lineamientos para la selección de donadores se han diseñado para excluir a los que presentan evidencia de enfermedades infecciosas o enfermedades de origen desconocido que pudieran ocasionarla (34).

De rutina se realizan pruebas para detectar VIH, hepatitis B, sífilis e infección sistémica en los donadores, no obstante, hay microorganismos diferentes a los causantes de esas enfermedades, que pueden ser introducidos en el receptor, ya sea, por contaminación del injerto durante el procesamiento y/o preservación, o por verdadera infección del donador. En este último caso la situación es especialmente crítica ya que puede introducirse un inóculo lo suficientemente grande como para poner al receptor en grave riesgo de sufrir alguna infección de fatales consecuencias (34).

3.7.1.1. ENFERMEDADES VIRALES.

La infección por VIH ha sido muy asociada a los trasplantes, debido a ésto, es necesario realizar la prueba de VIH a los donadores antes de efectuarlos (34, 72). Tanto riñón, como hígado, corazón, páncreas, médula ósea y hueso pueden transmitir el VIH. No se ha reportado ningún caso de transmisión de VIH por trasplante de córneas, aunque se han trasplantado córneas de donadores seropositivos a donadores seronegativos (34).

Otra infección asociada a los trasplantes es la ocasionada por citomegalovirus. Se ha comprobado que la mayoría de los pacientes seronegativos para citomegalovirus desarrollan infección primaria cuando reciben órganos de donadores seropositivos asintomáticos. Sin embargo, algunos receptores de riñón, hígado, corazón, pulmón y médula ósea de donadores seronegativos desarrollan infección, lo cual hace pensar que los injertos son infectados durante su procesamiento (34).

La tercera infección viral de importancia es la causada por el virus de la hepatitis B. El riñón ha sido implicado como fuente de infección en algunos pacientes que desarrollan este tipo de hepatitis, aunque existe la posibilidad de que pueda transmitirse a través de otros

órganos (34). La administración de globulina hiperinmune y la vacuna contra el virus de la hepatitis B juegan un papel importante en la prevención de dicha enfermedad (2, 34).

3.7.1.2. ENFERMEDADES BACTERIANAS.

La transmisión de enfermedades bacterianas de donador a receptor se han documentado en muchos reportes, sin embargo, esos estudios no diferencian la transmisión por infección verdadera del donador de la contaminación iatrogénica producida durante la preservación de los órganos (34).

Staphylococcus epidermidis, algunas especies de bacilos difteroides y Propionibacterium acnes representan un riesgo de infección bajo para los receptores de órganos. Muy raramente estos microorganismos han sido asociados a pérdida de injertos o muerte de los receptores de órganos contaminados por ellos (34).

Pseudomonas, otros bacilos gram negativos, Staphylococcus aureus y algunos hongos, por el contrario, son causantes de graves infecciones en los receptores. De los pacientes que reciben órganos infectados con Pseudomonas aproximadamente el 10 % mueren y casi el 50 % pierden el injerto o presentan secuelas de importancia. Bacilos gram negativos, Staphylococcus aureus y hongos son los microorganismos que con mayor frecuencia causan rupturas arteriales y hemorragia

en los receptores de órganos (34).

3.7.1.3. ENFERMEDADES PARASITARIAS.

La transmisión de parásitos con los injertos es muy rara. Al respecto son muy pocos los casos que han sido reportados. Plasmodium falciparum y Toxoplasma gondii son los parásitos que han sido transmitidos a los receptores a través de riñón y corazón, respectivamente (34).

3.7.1.4. CANCER.

Las células cancerosas muy raramente pueden sobrevivir después de ser introducidas en pacientes sanos ya que son reconocidas como extrañas y destruidas rápidamente. Sin embargo, si los pacientes están bajo terapia inmunosupresora, como los receptores de órganos, estas células pueden no ser destruidas y, además pueden invadir tejido adyacente y diseminarse ampliamente. Las células tumorales pueden ser trasplantadas accidentalmente por un órgano removido de un cadáver o de un donador vivo que tenga algún proceso maligno.

La mayoría de los casos de transmisión de cáncer con los trasplantes fueron reportados durante los primeros años de la realización de éstos. En la actualidad con el examen exhaustivo que se hace a los donadores es poco probable que

pueda transmitirse esta enfermedad (71).

3.7.2. ENFERMEDADES DEBIDAS A LA INMUNOSUPRESION.

A pesar de los grandes avances logrados en el campo de los trasplantes, la infección secundaria a inmunosupresión sigue siendo una importante causa de morbi-mortalidad. Más del 80% de los receptores de riñón sufren al menos un episodio de infección durante el primer año postrasplante y ésta conduce a la muerte, en muchos casos, durante el resto de ese período (76, 77).

Las infecciones oportunistas en receptores de riñón incluyen virus tales como los del Herpes y Papovavirus, bacterias tales como Nocardia asteroides y Legionella; una amplia variedad de hongos como Candida, Aspergillus, Cryptococcus neoformans y los de la familia Mucoraceae y protozoarios como Pneumocystis carinii, Strongyloides stercoralis y Toxoplasma gondii (76, 87).

Estas infecciones comparten varias características que ocasionan problemas en el manejo clínico:

1. La incidencia y severidad de esas infecciones está influenciada grandemente por el tipo e intensidad de la terapia inmunosupresora que está siendo administrada.

2. La presentación clínica está generalmente oculta.

3. El éxito de la terapia es directamente proporcional a la rapidez con la cual se hace el diagnóstico y se inicia el tratamiento específico.

4. La terapia para la mayoría de esas infecciones es particularmente difícil debido a la toxicidad que presentan los medicamentos utilizados en el tratamiento y a que son utilizados durante períodos de tiempo prolongados (76).

El riesgo de las infecciones oportunistas en los receptores de trasplantes está dado por la interacción de dos factores principales: el estado de inmunosupresión y la exposición a microorganismos. El estado de inmunosupresión está determinado por una serie de eventos entre los que se incluyen: naturaleza, dosis y duración de la terapia inmunosupresora que se está administrando; la presencia ó ausencia de granulocitopenia y factores que pudieran comprometer la barrera mucocutánea; factores metabólicos como uremia, hiperglicemia y estado nutricional. La exposición a microorganismos puede ocurrir en la comunidad pero de mayor importancia es la exposición intrahospitalaria a ellos (76, 77).

3.7.2.1. ENFERMEDADES VIRALES.

Las infecciones virales son las infecciones que más comúnmente se presentan en pacientes trasplantados. Entre los virus causantes de éstas se encuentran: Citomegalovirus, virus Epstein-Barr, Varicela zoster y Herpes simple.

Citomegalovirus es el agente infeccioso más importante que afecta a pacientes trasplantados. Sus efectos clínicos pueden ser agrupados en cuatro categorías:

1. Variedad de síndromes infecciosos producidos directamente por el virus, que incluyen fiebre, neumonía, hepatitis, colitis y coriorretinitis crónica.

2. Estado de inmunosupresión que acentúa aún más el producido por la terapia inmunosupresora que favorece las superinfecciones oportunistas por Pneumocystis carinii, Listeria monocytogenes y hongos, principalmente.

3. Disfunción del injerto.

4. Malignidad producida probablemente por el virus.

Como tratamiento profiláctico para Citomegalovirus se ha estado utilizando la droga antiviral ganciclovir, derivada del acyclovir, con resultados prometedores (76, 87).

La forma más común de infección por el virus de la Varicela Zoster en pacientes trasplantados es la infección localizada que se presenta aproximadamente en el 10 % de los

mismos. Los individuos que sufren infección primaria tienen alto riesgo de tener una enfermedad diseminada caracterizada por encefalitis, neumonía, falla hepática, pancreatitis, rash hemorrágico y coagulación intravascular diseminada. Por ésto, en todos estos pacientes deben investigarse los títulos de anticuerpos anti-Varicela Zoster. A los individuos seronegativos se les debe aplicar inmunoglobulina anti-varicela zoster y acyclovir W (76).

Las infecciones por virus del herpes simple localizadas: oral y anogenital, son comunes en los pacientes trasplantados y tienden a ser recurrentes y más severas que en los individuos normales. La terapia a base de acyclovir es la que ha producido los mejores resultados (76).

3.7.2.2. ENFERMEDADES BACTERIANAS.

La más importante de las infecciones bacterianas oportunistas en pacientes trasplantados es la ocasionada por Listeria monocytogenes que produce varios síndromes: bacteremia, en algunas ocasiones simultánea a gastroenteritis; meningitis subaguda y meningoencefalitis.

Nocardia asteroides produce tos, fiebre e infiltrados nodulares en pleura. Este microorganismo tiene capacidad de invadir vasos sanguíneos pulmonares, piel, sistema nervioso

central y otros sitios.

La terapia profiláctica a base de trimetoprim + sulfametoxazol ha producido buenos resultados en la prevención de infecciones causadas por estos dos microorganismos (76, 87).

Legionella pneumophila y Legionella micdadei han estado asociadas a infección pulmonar progresiva en pacientes trasplantados, particularmente en epidemias nosocomiales (76).

3.7.2.3. ENFERMEDADES MICOTICAS.

Las infecciones micóticas en pacientes trasplantados son de dos tipos: infección diseminada primaria ó de reactivación causada principalmente por Histoplasma, Coccidioides, Blastomyces, Paracoccidioides y la infección postrasplante causada por Candida, Aspergillus y Criptococcus.

Las infecciones micóticas más comúnmente encontradas son aspergilosis (como infección primaria) y candidiasis (asociada a infecciones bacterianas). Para el tratamiento profiláctico de Candida se utiliza nistatina (76, 87).

3.7.2.4. ENFERMEDADES PARASITARIAS.

Los principales microorganismos involucrados en las infecciones parasitarias oportunistas en pacientes trasplantados son Pneumocystis carinii, Strongyloides stercoralis y Toxoplasma gondii.

Pneumocystis carinii comúnmente produce neumonía intersticial difusa en pacientes que no están bajo profilaxis con trimetoprim + sulfametoxazol. Se presenta con mayor frecuencia en pacientes con infección previa por citomegalovirus entre 1 y 4 meses postrasplante y en pacientes con más de 6 meses postrasplante que presentan rechazo crónico, que han recibido inmunosupresión muy extensa ó que tienen infecciones virales crónicas.

Strongyloides stercoralis puede persistir en el tracto gastrointestinal de los pacientes mucho tiempo después de la exposición y se diseminan al deprimirse la inmunidad. Esto puede traer como resultado enterocolitis hemorrágica severa y/o neumonía hemorrágica y un síndrome de strongiloidiasis diseminada en el cual estos nemátodos acompañados por bacilos gram negativos pueden llegar a invadir cerebro, vísceras abdominales y otros tejidos.

Toxoplasma gondii, aunque frecuente, raramente causa infección diseminada en pacientes trasplantados (76).

4. ASOCIACION HLA-ENFERMEDAD

Los estudios sobre las asociaciones entre antígenos HLA y enfermedad se iniciaron al quedar demostrado que la susceptibilidad a la leucemia murina estaba parcialmente determinada por un gene del MHC del ratón. Los primeros estudios en humanos condujeron a encontrar asociaciones entre el grupo de antígenos HLA: B5, B35, B15 y B18 y el linfoma de Hodgkin, asociaciones que en particular no han sido reproducibles.

La asociación más marcada fué la encontrada entre la espondilitis anquilosante y el antígeno HLA-B27. Se ha realizado una enorme cantidad de estudios con los cuales se documenta la frecuencia de los antígenos de Clases I y II en una población de enfermos definida, en comparación con una población control sana (8, 91). A la fecha en más de 30 enfermedades la susceptibilidad ha sido relacionada con el sistema HLA. Las asociaciones confirmadas son presentadas en la Tabla 5.1 (8, 31, 32, 33, 42, 43, 60, 62, 91).

Enfermedad	HLA	Frecuencia (%)		Riesgo Relativo
		Pac.	Cont.	
Enfermedad de Hodgkin	A 1	40.0	32.0	1.4
Hemocromatosis idiopática	A 3	76.0	28.2	8.2
	B14	16.0	3.8	4.7
Hiperplasia adrenal congénita	B47	9.0	0.6	15.4
Espondilitis anquilosante	B27	90.0	9.4	87.4
Enfermedad de Reiter	B27	79.0	9.4	37.0
Uveítis anterior aguda	B27	52.0	9.4	10.4
Tiroiditis subaguda	B35	70.0	14.6	13.7
Psoriasis	Cw6	87.0	33.1	13.3
Dermatitis herpetiforme	DR3	85.0	26.3	15.4
Enfermedad celiaca	DR3	79.0	26.3	10.8
Síndrome de Sicca	DR3	78.0	26.3	9.7
Enf. de Addison idiopática	DR3	69.0	26.3	6.3
Enfermedad de Graves	DR3	56.0	26.3	3.7
Lepra tuberculoide (México)	DR3	16.3	4.1	4.9
Sínd. de Guillain Barre (México)	DR3	17.3	5.7	3.5
Diabetes Insulino Dependiente	DR3	56.0	28.2	3.3
	DR4	75.0	32.2	6.4
	DR2	10.0	30.5	0.2
Miastenia gravis	DR3	50.0	28.2	2.5
	B 8	47.0	24.6	2.7

Tabla 5.1. Asociaciones HLA-Enfermedad confirmadas.
Pac = Pacientes, Cont = controles.

Enfermedad	HLA	Frecuencia (%)		Riesgo Relativo
		Pac.	Cont.	
Lupus eritematoso sistémico	DR3	70.0	28.2	5.8
Neuropatía membranosa idiopática	DR3	75.0	20.0	12.0
Esclerosis múltiple	DR2	59.0	25.8	4.4
Síndrome de Goodpasture	DR2	88.0	32.0	15.9
Artritis reumatoide	DR4	50.0	19.4	4.2
Pénfigo	DR4	87.0	32.1	14.4
Tiroiditis de Hashimoto	DR5	19.0	6.9	3.2
Anemia perniciosa	DR5	25.0	5.8	5.4
Esclerosis múltiple (México)	DRw6	15.6	5.4	4.7
Artritis reumatoide (Japón)	A11	24.0	17.0	1.5
	Bw54	24.0	14.0	1.9
	DR4	67.0	41.0	3.0
	DRw53	84.0	63.0	3.1
Silicosis	A11	28.0	17.0	1.8
	Bw54	28.0	14.0	2.3
	DR4	56.0	41.0	1.9
Artritis reumatoide (EEUU)	Dw14			
	(DR4)	36.0	5.0	----
	Dw4			
	(DR4)	73.0	17.0	----

Tabla 5.1. (Continuación) Asociaciones HLA-Enfermedad confirmadas. Pac = Pacientes, Cont = Controles.

Las enfermedades asociadas con el sistema HLA presentan, en general, las siguientes características (30):

1. Aparición de rasgos de familiaridad; no son casos

aislados, sino que por el contrario, pueden existir otros casos entre consanguíneos.

2. Son de etiología desconocida.
3. Tienen tendencia a la cronicidad.
4. Presentan alteración de procesos inmunológicos.

La asociación HLA-enfermedad tiene implicaciones tanto en diagnóstico como en pronóstico y profilaxis de las enfermedades involucradas (91).

5. HLA Y PATERNIDAD.

Hay evidencia de que la determinación de paternidad era problema desde tiempos bíblicos. Sin embargo, los avances más significativos para la resolución de esos problemas se dieron en el siglo XX iniciando con la descripción del sistema de grupos sanguíneos ABO hecha por Landsteiner en 1900. Avances mayores ocurrieron al descubrirse el sistema Rh, alcanzando su punto máximo, con la tipificación HLA (86).

Las pruebas de laboratorio usadas en los casos de paternidad disputada identifican productos determinados genéticamente que se heredan de acuerdo a las Leyes de Mendel. Grupos sanguíneos, isoenzimas, proteínas séricas y antígenos HLA son los productos más comúnmente determinados en esas pruebas (27).

La inclusión de paternidad no puede ser probada concluyentemente todavía, pero una estimación matemática de la probabilidad de paternidad ha encontrado aceptación legal (86).

Utilizando los fenotipos de grupos sanguíneos y antígenos HLA de madres, hijos y padres putativos se puede alcanzar una probabilidad de exclusión de paternidad de alrededor del 95 % (24, 82, 102).

6. CONCLUSIONES.

- Falta mucho por descubrirse acerca de las estructuras moleculares y función de los antígenos del sistema HLA. A medida que se avance en el conocimiento de éstos, se podrán entender mejor los mecanismos de aceptación-rechazo de trasplantes, susceptibilidad a enfermedades, etc.

-El trasplante de órganos representa la rehabilitación para enfermos incurables, en condiciones de mejor calidad de vida.

-Hay una mejor sobrevida de los injertos cuando donador y receptor son HLA-idénticos, que cuando son haploidenticos o haplodistintos.

-Las transfusiones sanguíneas pretrasplante incrementan la sobrevida de los injertos en trasplantes renales, principalmente cuando donador y receptor no tienen similitud entre sus antígenos HLA.

-En trasplantes de médula ósea no es frecuente encontrar donadores relacionados adecuados, por lo tanto, se ha intentado utilizar donadores no relacionados y, aunque por el momento no se han obtenido los resultados esperados, en un futuro ésto será posible ya que las causas de falla son susceptibles de corregirse.

-A pesar de que se han mejorado las tasas de supervivencia en trasplantes hechos a partir de órganos obtenidos de cadáveres, sigue siendo justificado el uso de donadores vivos relacionados.

-La utilización de donadores vivos no relacionados es una opción viable para solucionar el problema de la falta de órganos disponibles para trasplante.

-La utilización de donadores anencefálicos y donadores fetales ha creado gran controversia, sin embargo, es una cuestión que debe discutirse en el futuro.

-Con la utilización de técnicas sofisticadas (como la citometría de flujo) para la detección de anticuerpos preformados se ha logrado prevenir de mejor manera el rechazo hiperagudo de órganos.

-Actualmente hay unanimidad en considerar a la ciclosporina A el inmunosupresor con el que se consiguen los mejores resultados en trasplantes.

-Se vislumbran nuevos horizontes en el campo de la inmunosupresión con la utilización de FK-506 y los anticuerpos monoclonales anti-CD3.

-Las infecciones oportunistas que se presentan en los pacientes trasplantados bajo tratamiento con

inmunosupresores deben prevenirse más que tratarse.

-Al igual que en los trasplantes de órganos, en las transfusiones de plaquetas es necesario encontrar donadores HLA compatibles con el paciente para obtener buenos resultados, sobre todo cuando la terapia con plaquetas se debe mantener por un tiempo prolongado.

-La asociación HLA-enfermedad ha explicado la susceptibilidad que ciertos individuos presentan ante algunos padecimientos.

-La utilización de las tipificaciones HLA conjuntamente con la determinación de los fenotipos de varios sistemas de grupos sanguíneos han llevado a alcanzar resultados cercanos al 100 % en la exclusión de paternidad en disputa.

7. BIBLIOGRAFIA.

1. Abouna G. M., et. al.
The living unrelated donor - a viable alternative for renal transplantation.
Transplant. Proc. 20 (5): 802-804 (1988).
2. Al-Khader A. A., et. al.
Renal transplantation from HBsAg positive donors to HBsAg negative recipients.
B. M. J. 297 (6652): 854 (1988).
3. American Association of Blood Banks.
HLA techniques for blood bankers.
ed. A.A.B.B., Arlington, Virginia (1984).
4. American Association of Blood Banks.
Scientific and technical aspects of the MHC.
ed. A.A.B.B., Arlington, Virginia (1989).
5. Annas G. J. y Sherman E.
The politics of transplantation of human fetal tissue.
New Engl. J. Med. 320 (16): 1079-1082 (1989).
6. Arras J. D. y Shrinnar S.
Anencephalic newborns as organ donors: a critique.
J. A. M. A. 259 (15): 2284-2285 (1988).

7. Auchincloss H.
Xenogeneic transplantation.
Transplantation 46 (1): 1-20 (1988).
8. Bachtelor J. R. y McMichael A. J.
Progress in understanding HLA and disease associations.
Br. Med. Bull. 43 (1): 156-183 (1987).
9. Banner B., et. al.
Hyperacute rejection of the kidney in patients with a
negative crossmatch.
Transplant. Proc. 20 (1 Sup. 1): 453-459 (1988).
10. Bean M. A., et. al.
Kidney graft survival and immunological changes in
patients conditioned with donor-specific transfusions
prior to transplantation.
Transplant. Proc. 20 (6): 1084-1086 (1988).
11. Beatty P. G., et. al.
Marrow transplantation from unrelated HLA-matched
volunteer donors.
Transplant. Proc. 21 (1): 2993-2994 (1989).

12. Beatty P. G., et. al.
Probability of finding HLA-matched unrelated marrow donors.
Transplantation 45 (4): 714-718 (1988).
13. Bell J. I., et. al.
Molecular Biology of the Class II region of the Human Major Histocompatibility Complex.
Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. 51: 75-82 (1986).
14. Bernard H. J.
Todd-Sanford-Davidsohn. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. Tomo 2.
8a. ed., Salvat Editores S. A., Barcelona, Pág. 973-1011 (1988).
15. Bjorkman P. J., et. al.
Structure of the human Class I histocompatibility antigen, HLA-A2.
Nature 329: 506-511 (1987).
16. Bodmer W. F.
The HLA system: structure and function.
J. Clin. Pathol. 40: 948-958 (1987).

17. Borel J. F.
The cyclosporins.
Transplant. Proc. 21 (1): 810-815 (1989).
18. Brubaker D. B.
Refractoriness to platelet transfusions.
Am. J. Clin. Path. 91 (4): 500-501 (1989).
19. Brubaker D. B. y Romine M.
Relationship of HLA and platelet-reactive antibodies in
alloimmunized patients refractory to platelet therapy.
Am. J. Hematol. 26: 341-352 (1987).
20. Cecka J. M., et. al.
Blood transfusions and HLA matching -an either/or
situation in cadaveric renal transplantation.
Transplantation 45 (1): 81-86 (1988).
21. Cook D. J., et. al.
Ann aproach to reducing early kidney transplant failure
by flow citometry crossmatching.
Clin. Transplantation 1: 253-256 (1987).
22. Cook D. J., et. al.
Donor factors that influence flow citometry
crossmatching.
Transplant Proc. 20 (1 Sup. 1): 81-83 (1988).

23. Dib K. A.
Aspectos legales de la donación de órganos.
VIII Curso teórico-práctico de Actualización en
Histocompatibilidad, Depto. de Inmunogenética del INDRE,
S.S. y Sociedad Mexicana de Histocompatibilidad y
Trasplantes A. C.: México, D. F.: 1989
24. Dunn D. S., et. al.
The usefulness of various polymorphisms in paternity
testing. Experience with three Southern African
populations.
S. Afr. Med. J. 76 (7): 303-307 (1989).
25. Dyer P. A., et. al.
Evidence that matching for HLA antigens significantly
increases transplant survival in 1001 renal transplants
performed in the Northwest region of England.
Transplantation 48 (1): 131-135 (1989).
26. Garovoy M. R., et. al.
Flow cytometry analysis: a high technology crossmatch
technique facilitating transplantation.
Transplant. Proc. 15 (3): 1939-1944 (1983).
27. Gazit E., et. al.
DNA fingerprint in paternity testing.
Harefuah 118 (3): 129-133 (1990).

28. Gingrich R. D., et. al.
Allogeneic marrow grafting with partially mismatched,
unrelated marrow donors.
Blood 71 (5): 1375-1381 (1988).
29. González-Molina M., et. al.
Estudio de 100 pacientes trasplantados con riñón de
cadáver tratados con Ciclosporina.
Nefrología 8 (1): 55-60 (1988).
30. Gorodezky C.
El MHC y las enfermedades.
VIII Curso teórico-práctico de Actualización en
Histocompatibilidad, Depto. de Inmunogenética del INDRE,
S. S. y Sociedad Mexicana de Histocompatibilidad y
Trasplantes A. C., México. D. F.: 1989.
31. Gorodezky C., et. al.
HLA-DR antigens in Mexican patients with Guillain-Barre
Syndrome.
J. Neuroimmunology 4: 1-7 (1983).
32. Gorodezky C., et. al.
Immunogenetic profile of multiple sclerosis in Mexicans.
Human Immunol. 16: 364-374 (1986).

33. Gorodezky C., et. al.
Tuberculoid leprosy in Mexicans is associated with
HLA-DR3.
Lepr. Rev. 58: 401-406 (1987).
34. Gottesdiener K. M.
Transplanted infections: donor-to-host transmission with
the allograft.
Ann. Int. Med. 110 (12): 1001-1013 (1989).
35. Granelli-Piperno A., Keane M. y Steinman R. M.
Evidence that cyclosporine inhibits cell-mediated
immunity primarily at the level of the T lymphocyte
rather than the accessory cell.
Transplantation 46 (Agosto Sup.): 53 S - 60 S (1988).
36. Greely H. T., et. al.
The ethical use of human fetal tissue in medicine.
New Engl. J. Med. 320 (16): 1093-1096 (1989).
37. Guillete R.
Letter to the editor.
J. A. M. A. 260 (9): 1239 (1988).
38. Haberal M., et. al.
Living unrelated donor kidney transplantation.
Transplant. Proc. 20 (5): 805 (1988).

39. Heal J. M., Blumberg N. y Masel D.
An evaluation of crossmatching, HLA and ABO matching for
platelet transfusions to refractory patients.
Blood 70 (1): 23-30 (1987).
40. Heinrichs H. y Orr H. T.
HLA non-A, B, C Class I genes: their structure and
expression.
Immunol. Res., 9: 265-274 (1990).
41. Holmes N.
New HLA Class I molecules.
Immunol. Today 10 (2): 52-53 (1989).
42. Honda K., et. al.
HLA and silicosis in Japan.
New Engl. J. Med. 319 (24): 1610 (1988).
43. Horn G. T., et. al.
Sequence analysis of HLA Class II genes from IDD
individuals.
Human Immunology 21: 249-263 (1988).
44. Hows J., et. al.
Matched unrelated donor transplantation.
Transplant. Proc. 21 (1): 2923-2925 (1989).

45. Iwaki Y., et. al.
Flow cytometry crossmatching in human cadaver kidney transplantation.
Transplant. Proc. 19 (1): 764-766 (1987).
46. Jonsen A. R.
Transplantation of fetal tissue: an ethicist's viewpoint
Clin. Res. 36 (3): 215-219 (1988).
47. Kappes D. y Strominger J. L.
Human Class II Major Histocompatibility Complex genes and proteins.
Ann. Rev. Biochem. 57: 991-1028 (1988).
48. Kaufman D. B., et. al.
Renal transplantation between living-related sibling pairs matched for zero-HLA haplotypes.
Transplantation 47 (1): 113-119 (1989).
49. King P. y Areen J.
Legal regulation of fetal tissue transplantation.
Clin. Res. 36 (3): 205-208 (1988).
50. Koller B. H., et. al.
HLA-E: a novel HLA Class I gene expressed in resting T lymphocytes.
Immunol. Res. 6: 1-10 (1987).

51. Landwirth J.
Should anencephalic infants be used as organ donors?
Pediatrics 82 (2): 257-259 (1988).
52. Mach B., et. al.
Polymorphism and regulation of HLA Class II genes of the
Major Histocompatibility Complex.
Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol. 51: 67-74
(1986).
53. Mandel T. E.
Transplantation 1988.
Immunology Today 10 (1): 1-3 (1988).
54. Marx J. L.
Structure of MHC protein solved.
Science 238: 613-614 (1987).
55. McCarthy L. J.
Immunological aspects of platelet transfusion.
Arlington, Virginia: A. A. B. E.: 1985.
56. Medearis D. N. y Holmes L. B.
On the use of anencephalic infants as organ donors.
New Eng. J. Med. 321 (6): 391-393 (1989).

57. Minogue B. P.
Letters to the editor.
J. A. M. A. 260 (9): 1239 (1988).
58. Morris P. J.
Single or multiple drug therapy.
Transplant. Proc. 21 (1): 820-822 (1989).
59. Morris R. E., et. al.
Immunopharmacology of FK-506.
Transplant. Proc. 21 (1): 1042-1044 (1989).
60. Muller C. A., et. al.
Significant association of acute lymphoblastic leukemia
with HLA-Cw7.
Genet. Epidemiol. 5: 453-461 (1988).
61. Myers B. D.
What is cyclosporine nephrotoxicity?
Transplant. Proc. 21 (1): 1430-1432 (1989).
62. Nepom G.T., Hansen J. A. y Nepom B. S.
The molecular basis for HLA Class II associations with
rheumatoid arthritis.
J. Clin. Immunol. 7 (1): 1-7 (1987).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

63. Nomenclature Committee on leucocyte antigens.
Nomenclature for factors of the HLA system, 1987.
Immunogenetics 28 (6): 391-398 (1988).
64. Norman D. J.
An overview of the use of the monoclonal antibody OKT3
in renal transplantation.
Transplant. Proc. 20 (6): 1248-1252 (1988).
65. O'Connor K. J., et. al.
Extreme donor age in kidney transplantation.
Transplant. Proc. 20 (5): 770-771 (1988).
66. Opelz G.
Comparison of immunosuppressive protocols in renal
transplantation: a multicenter view.
Transplant. Proc. 20 (6 Sup. 8): 31-36 (1988).
67. Opelz G.
The role of HLA matching and blood transfusions in the
cyclosporine era.
Transplant. Proc. 21 (1): 609-612 (1989).
68. Parham P.
Function and polymorphism of human leucocyte antigen -A,
B, C molecules.
Am. J. Med. 85 (Sup. 6A): 2-5 (1988).

69. Parham P., et. al.
Nature of polymorphism in HLA-A, -B and -C molecules.
Proc. Natl. Acad. Sci. 85: 948-958 (1988).
70. Peabody J. L., Emery J. R. y Ashwal S.
Experience with anencephalic infants as prospective
organ donors.
New Engl. J. Med. 321 (6): 344-350 (1989).
71. Penn I.
Transmission of cancer with organ donors.
Transplant. Proc. 20 (5): 739-740 (1988).
72. Quarto M., et. al.
HIV transmission through kidney transplantation from a
living related donor.
New Engl. J. Med. 320 (26): 1754 (1989).
73. Rao K. V. y Ney A. L.
Donor age does not affect the outcome of cadaver renal
transplantation.
Transplant. Proc. 20 (5): 773 (1988).
74. Rodríguez C. R.
Vademécum Académico de medicamentos. Tomo I.
1a. edición. México, Dirección General de Publicaciones,
UNAM, 1984. Pág. 87-88.

75. Rodríguez, C. R.
Vademécum Académico de medicamentos. Tomo II.
1a. edición, México, Dirección General de Publicaciones,
UNAM, 1984. Pag. 708-709.
76. Rubin R. H. y Tolckoff-Rubin N. E.
Opportunistic infections in renal allograft recipients.
Transplant. Proc. 20 (6 Sup. 8): 12-18 (1988).
77. Rubin R. H. y Tolckoff-Rubin N. E.
Infection: the new problems.
Transplant. Proc. 21 (1): 1440-1445 (1989).
78. Ruíz M. F. y Ruíz S. J.
Donación de órganos en México.
Fundación Mexicana para la Salud A. C., 1-55 (1990).
79. Ryffel B., et. al.
Cyclosporine -relationship of side effects to mode of
action.
Transplantation 46 (Agosto Sup.): 90 S - 96 S (1988).
80. Sabater R., et. al.
Renal function in recipients of kidney allografts from
elderly donors: a multicenter study.
Transplant. Proc. 20 (5): 774-775 (1988).

81. Salaman J. R.
Anencephalic organ donors.
B. M. J. 298: 622-623 (1989).
82. Schanfield M. S.
Application of immunoglobulin heavy chain (GM, AM) and
light chain (KM) allotypes to cases of disputed
paternity.
Exp. Clin. Immunogenet. 6(1): 112-122 (1989).
83. Schreuder I.
Complete listing of recognized HLA specificities (1987).
Pel-Freez Clinical Systems (1988).
84. Sengar D. P. S., et. al.
Role of Class II HLA in cadaveric renal transplantation:
a recent update.
Transplant. Proc. 21 (2): 3328-3329 (1989).
85. Shapiro M. H.
Letters to the editor.
J. A. M. A. 260 (9): 1239-1240 (1988).
86. Silver H.
Paternity testing.
Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 27 (5): 391-408 (1989).

87. Simmons R. L. y Migliori R. J.
Infection prophylaxis after successful organ
transplantation.
Transplant. Proc. 20 (6): 6-11 (1988).
88. Spital A.
Living kidney donation: still worth the risk.
Transplant. Proc. 20 (5): 1051-1058 (1988).
89. Starzl T. E.
Transplantation.
J. A. M. A. 261 (19): 2894-2895 (1989).
90. Strominger J. L.
Structure of Class I and Class II HLA antigens.
Br. Med. Bull. 43 (1): 81-93 (1987).
91. Svejgaard A., Platz P. y Ryder L.P.
HLA and disease 1982. -A survey.
Immunological Rev. : 193-217 (1983).
92. Szmidt J., et. al.
Transplantation of kidney harvested from donors over
sixty years of age.
Transplant. Proc. 20 (5): 772 (1988).

93. Talbot D., et. al.
The relevance of a more sensitive crossmatch assay to renal transplantation.
Transplantation 47 (3): 552-555 (1989).
94. Terán O. L.
Complejo Principal de Histocompatibilidad.
Mensaje Bioquímico 7: 329-350 (1984).
95. Terán O. L.
El papel del MHC y de las transfusiones en el trasplante renal.
VIII Curso teórico-práctico de Actualización en Histocompatibilidad, Depto. de Inmunogenética del INDR, S. S. y Sociedad Mexicana de Histocompatibilidad y Trasplantes A. C., México. D. F.: 1989.
96. Terasaki P.
Visuals of the clinical histocompatibility workshop.
Los Angeles, Cal.: One Lambda Inc.: 1987.
97. Terasaki P.
Clinical transplants.
Los Angeles, Cal.: ed. UCLA, Pág. 409-414 (1987).

98. Thomson A. W. y Woo J.
Immunosuppressive properties of FK-506 and rapamycin.
Lancet 2 (8660): 443-444 (1989).
99. Ting A.
The role of HLA Class II antigens in clinical
transplantation.
Clinical Transplants, Los Angeles, Cal., ed. UCLA, Pág.
515-529 (1987).
100. Truog R. D. y Fletcher J. C.
Anencephalic newborns. Can organs be transplanted
before brain death?
New Eng. J. Med. 321 (6): 388-391 (1989).
101. Vanderwerf B. A y Serota A. I.
Low-dose cyclosporine for cadaveric renal
transplantation.
Transplantation 45 (2): 320-323 (1988).
102. Wenk R., Houtz T. y Brooks M.
Paternity probabilities of biologic fathers and
unexcluded, falsely accused men using blood group
markers.
Transfusion 28 (4): 316-318 (1988).

103. White D. J. G. y Lim S. M. L.
The induction of tolerance by cyclosporine.
Transplantation 46 (Agosto Sup.): 118 S - 121 S (1988).
104. Yoshimura N., et. al.
A new immunosuppressive agent, FK-506, inhibits the
expression of alloantigen -activated suppressor cells as
well as the induction of allreactivity.
Transplant. Proc. 21 (1): 1045-1047 (1989).
105. Yunis E. J.
MHC haplotypes in Biology and Medicine.
Am. J. Clin. Path. 89 (2): 268-280 (1988).