

28
4

ELEMENTOS DEL SISTEMA INMUNOLOGICO EN LA SUPERFICIE
DE CISTICERCOS EXTIRPADOS DEL SER HUMANO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE LICENCIADO EN INVESTIGA
CION BIOMEDICA BASICA .

P R E S E N T A

MA. DOLORES CORREA BELTRAN

1983



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.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de la Doctora Ana Flisser de Martinez, Departamento de Inmunología del Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM. y en laboratorio de la Doctora Clara Gorodezky de Raisbaum, laboratorio de Inmunología, Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, SSA.

A la memoria de mi padre y a mi madre, con profundo agradecimiento y cariño.

RESUMEN

Se examina la hipótesis de que en la cisticercosis humana, los cisticercos evaden la respuesta inmunológica del huésped por medio de anticuerpos bloqueadores y/o mimetismo con el huésped por adsorción o síntesis de antígenos de histocompatibilidad idénticos o similares a los de éste.

Se demostró la presencia de determinantes antigénicos de IgG humana en la superficie de 11 de 12 cisticercos y de C3b humano en 6 de 10 de ellos; los 4 restantes fijaron Complemento (C) cuando éste fue suministrado en forma activa y uno lo fijó aun en ausencia de componentes de la vía clásica.

No puede concluirse en forma definitiva que las IgGs humanas asociadas al cisticercos sean anticuerpos anti-cisticercos, pero, puesto que en 3 de 10 cisticercos se demostró que fijaban C3b por la vía clásica al ser adicionado y otros 6 de 10 tienen C3b fijado in vivo, puede inferirse que la mayor parte de los cisticercos no tienen todos los determinantes antigénicos parasitarios enmascarados. Algunos (4 de 10) pueden ser capaces de inactivar el C in vivo, pues no tenían C3b pero eran capaces de fijarlo cuando se les suministraba; también podría arguirse que, in vivo, el C no llegó al sitio donde se instaló el parásito.

También se demostró que todos los cisticercos fijaban anticuerpos anti-HLA contra cuando menos un antígeno de histocompatibilidad. Sin embargo, salvo una excepción, la preadsorción de los sueros anti-HLA con plaquetas humanas no eliminó su capacidad de fijarse al cisticercos, aunque sí se eliminó su capacidad linfocítica. Esta observación impide concluir que en la superficie del cisticercos hay antígenos HLA que lo enmascaren.

En vista de lo anterior, no podemos sostener que el cisticercos establecido evada el ataque inmunológico, y sugerimos que más que evadir la respuesta inmunológica, los cisticercos son de algún modo resistentes a ella. Los mecanismos de resistencia deben ser aun dilucidados.

INDICE

INTRODUCCION	1
Cisticercosis	1
Mecanismos de evasión de la respuesta inmunológica	3
Complejo Principal de Histocompatibilidad	5
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	13
MATERIAL Y METODOS	14
RESULTADOS	19
DISCUSION	31
REFERENCIAS	35

INTRODUCCION

La simbiosis es un fenómeno de interés científico debido a que es un evento complejo de adaptación evolutiva entre dos especies genéticamente distintas. Se define como la relación que se establece entre dos organismos que pasan parte o toda su vida íntimamente asociados (1). Existen grados de asociación y diferentes efectos de ésta sobre la supervivencia de los organismos: algunas simbiosis son "indiferentes" pues no le causan daño a ninguno y con frecuencia son benéficas para alguno de los dos organismos que se relacionan, este tipo de simbiosis se denomina comensalismo; existen aquellas en que ambos organismos resultan beneficiados de la asociación y por ello han sido llamadas mutualismo; finalmente, tenemos al parasitismo, que es la relación que se establece entre dos organismos, uno de los cuales (el parásito) es metabólicamente dependiente del otro (huésped). Dos de las características más importantes de este tipo de simbiosis son el desarrollo de respuesta inmunológica del huésped (si es vertebrado) y el daño que, con frecuencia, el último induce al primero y que puede ser, o tan insignificante que resulte difícil diferenciar a la relación de un comensalismo, o tan importante que el huésped enferme o incluso muera. Es obvio que estos últimos casos son los de interés médico cuando el huésped es el ser humano.

Las parasitosis humanas se conocen desde hace tiempo y en ocasiones han representado problemas de salud (2), por lo que se han hecho importantes los estudios de diagnóstico, tratamiento, epidemiología y prevención de estos padecimientos. Es, sin embargo, necesario basar estos estudios en un conocimiento más profundo de los organismos que participan en la relación huésped-parásito, así como de su génesis y los mecanismos que permiten que algunas lleguen a durar años.

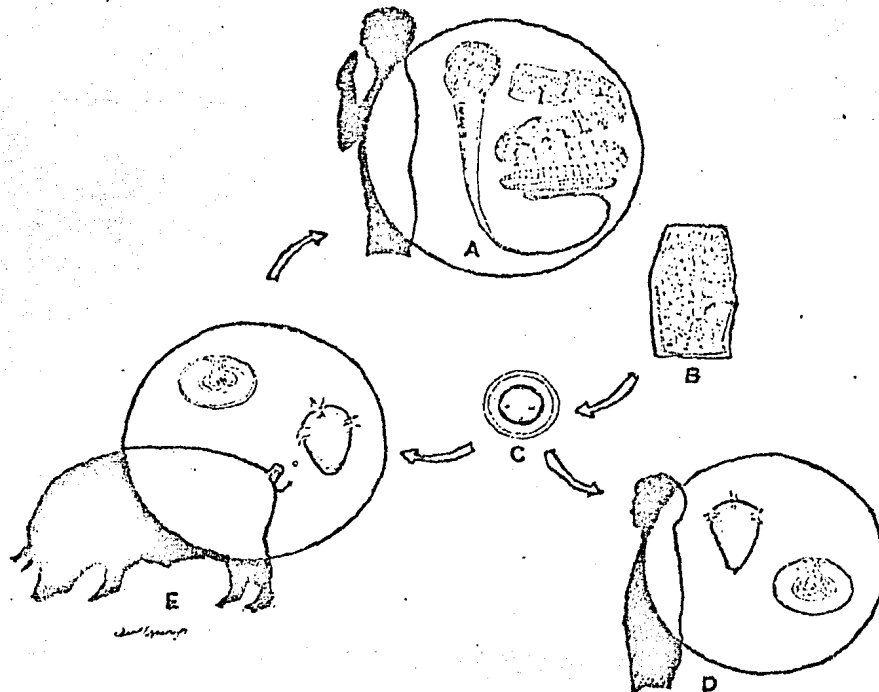
La cisticercosis humana es un padecimiento de creciente interés en el terreno de la medicina ya que se le ha encontrado en algunos países del mundo, en especial en Latinoamérica, Asia y Africa, donde alcanza frecuencias aproximadas de 2.1%, 3% y 3.2% respectivamente (3, 4).

En México la cisticercosis es una de las enfermedades de mayor importancia entre los padecimientos del Sistema Nervioso Central (SNC): Pérez-Tamayo y col. (5), informaron que esta enfermedad ocupa el noveno lugar como causa de muerte y Rabiela y col. (6) encontraron en autopsias que el 3.2% de 4250 cadáveres tenían cisticercos en cerebro y que el 19.2% de ellos murieron a causa del parásito. Por otro lado, Flisser (7), recopiló datos de autopsias hechas por diferentes autores en el período de 1947 a 1974 e informó que la frecuencia de cisticercosis cerebral fue alrededor de un 2%.

El padecimiento se debe a que la larva de la Taenia solium se desarrolla en el SNC y genera sintomatologías variadas, como cráneo hipertensivo, crisis convulsivas, deterioro mental o, incluso, la muerte. La diversidad de las manifestaciones depende de varios factores, entre ellos la zona donde se aloja el parásito, el número de ellos y la intensidad de la reacción inflamatoria. Los cisticercos también pueden localizarse en otras partes del organismo, tales como tejido subcutáneo, músculo y ojo (3).

Durante el ciclo de vida (Fig. 1), el adulto de la Taenia solium habita en el hombre por períodos largos de tiempo y llega a medir varios metros de longitud (A), está formado por el escólex o cabeza, el cuello y el estróbilo que está dividido en segmentos llamados proglótidos que son inmaduros, maduros y grávidos; los proglótidos grávidos (B), están llenos de huevecillos (los que miden, aproximadamente, 30 μ m de diámetro, Fig 1 - C) son excretados con las heces fecales y cuando un cerdo (o un humano) los ingiere, liberan a los embriones hexacanto por acción de las enzimas gástricas; éstos a su vez son activados por las sales biliares para penetrar por la pared del intestino delgado y llegar al torrente circulatorio. De ahí pasan a los diferentes órganos en donde se desarrolla la larva (o cisticerco. Fig. 1 -D y E) que está formado por una bolsa de hasta 2 cm de diámetro, la cual contiene al escólex invaginado y rodeado de fluido vesicular. Esta última es la forma infectiva capaz de completar el ciclo ya que, al ser ingerida por el hombre, se instala en el duodeno y se desarrolla hasta la forma adulta.

FIGURA 1



Esta relación huésped-parásito, al igual que otras muchas, es un fenómeno dinámico y complejo de interacción entre dos especies, en el que participan factores múltiples, extrínsecos e intrínsecos a la relación. Entre los factores extrínsecos, como reconocieran Gemmell y col.(9), se encuentran los mecanismos de dispersión de los huevecillos sobre los que influyen los factores ambientales como la humedad, las corrientes de agua y aire y la participación de artrópodos y otros animales en su dispersión, así como los factores socioculturales tales como los hábitos de higiene de la población. Entre los factores intrínsecos más importantes se encuentran la viabilidad y posiblemente la madurez del embrión hexacanto, la capacidad bioquímica del huésped para activar a los huevecillos y tal vez alguna forma de susceptibilidad genética a la enfermedad. Indudablemente, la interacción inmunológica entre el huésped y el parásito, es uno de los factores intrínsecos de mayor importancia para el desarrollo y el mantenimiento de las parasitosis. Con frecuencia ha llamado la atención a los parasitólogos la capacidad de los parásitos de sobrevivir en un ambiente que debiera ser hostil y han buscado las causas de ello en mecanismos desarrollados por éstos para evadir el ataque inmunológico.

Mecanismos de Evasión de la Respuesta Inmunológica.

Se han postulado diferentes mecanismos de evasión inmunológica, entre los que se encuentran:

1) La inmunosupresión. Se ha encontrado en algunas parasitosis por protozoarios (10, 11), que éstos producen factores que inmunosuprimen a sus huéspedes.

2) La variación antigénica que consiste en cambios cíclicos de antígenos superficiales del parásito, de tal manera que cuando aparece la respuesta inmunológica del huésped contra ciertos antígenos, éstos ya desaparecieron y el organismo se mantiene tan activo inmunológicamente que se presentan cuadros de hipergamaglobulinemia y hasta de autoinmunidad (11).

3) El enmascaramiento por adsorción de antígenos del huésped a la superficie del parásito. Se sabe que Schistosoma mansoni adsorbe antígenos de eritrocito de ratón en su superficie, fenómeno que correlaciona con una disminución en la capacidad de fijar anticuerpos in vitro (12).

4) La desactivación del complemento (C) que se debe a que el parásito secreta factores que agotan a las proteínas de la cascada del C lejos del sitio donde se aloja, impidiendo así su lisis tanto por vía clásica como por vía alterna. Esto se ha encontrado precisamente en un céstodo: la larva de la Taenia taeniaeformis (13).

5) El mimetismo molecular, que consiste en la capacidad del parásito de sintetizar antígenos inmunológicamente parecidos a los del huésped. Fasciola hepática tiene una actividad enzimática capaz de sinteti-

zar antígenos sanguíneos humanos (A, H y Lewis) (14), aunque no se han buscado estos antígenos en la superficie del parásito.

6) El establecimiento del parásito en sitios "inmunológicamente privilegiados". Un ejemplo de esto fue encontrado por Viens y col. (15) para Trypanosoma musculi en el ratón que utiliza la vasa recta de los riñones como sitio de evasión. Existe un tipo de "sitio privilegiado" que es el espacio intracelular de algunas células fagocíticas: algunos parásitos como Toxoplasma gondii son fagocitados por macrófagos y, ya adentro, inhiben la fusión de los lisosomas primarios al fagosoma, lo que le permite sobrevivir y multiplicarse (16).

7) La inducción de anticuerpos bloqueadores, de isotipos incapaces de fijar C que compiten a nivel superficial con aquellos que sí lo hacen. La presencia de inmunoglobulinas del huésped sobre la superficie de Trypanosoma lewisi en rata, se ha correlacionado con un efecto tripanostático y no tripanolítico debido, tal vez, a su incapacidad de fijar C (17).

8) La liberación de antígenos solubles. Se sabe que un antígeno en alta concentración en el organismo, provoca una tolerancia a éste, revelada por la disminución en la respuesta humoral contra el antígeno (18). La síntesis y liberación de grandes cantidades de algún antígeno parasitario podría, por un lado, tener un efecto tolerizante sobre el huésped y, por otro, combinarse con los anticuerpos específicos impidiendo que actúen en la superficie lisando a las células del parásito (19).

Debido a la multiplicidad y heterogeneidad de los efectores del sistema inmunológico, es difícil suponer que un solo mecanismo de evasión sea capaz de mantener una infección, por esto es posible que la mayoría de los parásitos utilicen una combinación de varios.

En las infecciones humanas tisulares como la cisticercosis es difícil demostrar la presencia de mecanismos de evasión del tipo de la variación antigénica. La posibilidad de cultivar y desarrollar in vitro embriones de diferentes céstodos (entre ellos algunas especies de Taenia), existente en la actualidad (20), promete ser de gran ayuda en el futuro. Para este propósito podrían servir otros sistemas como los modelos de infección experimental en animales de laboratorio, pero en las cisticercosis experimentales, las larvas no se instalan en los mismos órganos que en el humano, por lo que las observaciones no pueden extrapolarse. La única que parece ser análoga a la humana es la cisticercosis porcina, pero debido a que son animales caros, a la dificultad de manipularlos y de tener cepas puras, así como al peligro inherente al empleo de huevecillos de Taenia solium, no son modelos utilizables.

La cisticercosis humana no parece correlacionar con inmunodeficiencia generalizada, ya que al menos un 85% de los pacientes comprobados por cirugía, presentaron anticuerpos anti-cisticerco detectados por ELISA (21). Sin embargo, Ridaura (22), encontró cierto grado de correlación entre las inmunodeficiencias congénitas o adquiridas y la cisticercosis

en las autopsias de siete niños llevadas a cabo en el Instituto Nacional de Pediatría del DIF; sin embargo se requieren más estudios para verificar la existencia de dicha correlación. En nuestro laboratorio se está llevando a cabo el estudio clínico de pacientes cisticercosos con el fin de determinar si existe algún tipo de inmunodeficiencia.

Un antígeno del cisticerco de la Taenia solium en cerdo, llamado antígeno B, que fue purificado por Guerra y col. (23) y contra el cual tienen anticuerpos 84% de los pacientes positivos por Inmunoelectroforesis (24), parece tener propiedades de fibronectina, entre las cuales se encuentra la alta afinidad por el tejido conectivo (25). Si in vivo este antígeno es secretado por el parásito y se adsorbe al tejido conectivo del huésped, podría desviar la respuesta humoral hacia el tejido del propio huésped.

Casi cualquier antígeno del huésped podría servir al parásito para enmascararse pero existen algunos que, debido a su importancia en los fenómenos de autoreconocimiento podrían ser preferencialmente usados; tal es el caso de los antígenos de histocompatibilidad.

Complejo Principal de Histocompatibilidad.

A. Antecedentes.

Los estudios del Complejo Principal de Histocompatibilidad se iniciaron gracias al trabajo pionero de Gorer (26), durante los años 30's, él encontró que un solo locus situado en el grupo de unión IX (cromosoma No. 17 del ratón), controlaba la producción de un antígeno superficial (antígeno II) que era el responsable del rechazo rápido de alotransplantes. Posteriormente Snell (27), lo denominó antígeno de histocompatibilidad y al locus que lo controlaba lo llamó H-2 (de histocompatibilidad y antígeno II). Actualmente se sabe que este sitio genético no es una sola región genética sino un conjunto de loci que participan de manera coordinada y compleja en diferentes funciones biológicas.

Los transplantes entre copas alogénicas de ratón (con fondo genético idéntico a excepción del H-2), eran rechazados rápidamente; a los antígenos que inducían este tipo de rechazo se les llamó Antígenos Principales de Histocompatibilidad y a los loci que los controlan Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC, del inglés Major Histocompatibility Complex). Aquellos transplantes entre cepas con diferentes fondo genético pero con la misma región del H-2, eran rechazados lentamente; los antígenos responsables del rechazo lento fueron llamados Antígenos Menores de Histocompatibilidad y se sabe que los loci que los controlan son múltiples y están ubicados en otros cromosomas además del cromosoma 17 del ratón (28).

Los primeros hallazgos que demostraron un sistema análogo al H-2 en humanos, se deben a Dausset (29), quién encontró anticuerpos antileucocitarios en sujetos politransfundidos. Él demostró que dichos anticuerpos iban dirigidos contra el antígeno A2 del sistema que en humanos se denomina HLA (del inglés Human Leucocyte Antigens). Este complejo ha tenido un gran impacto en la medicina debido a las funciones biológicas en las que está involucrado.

B. Localización Genética del MHC.

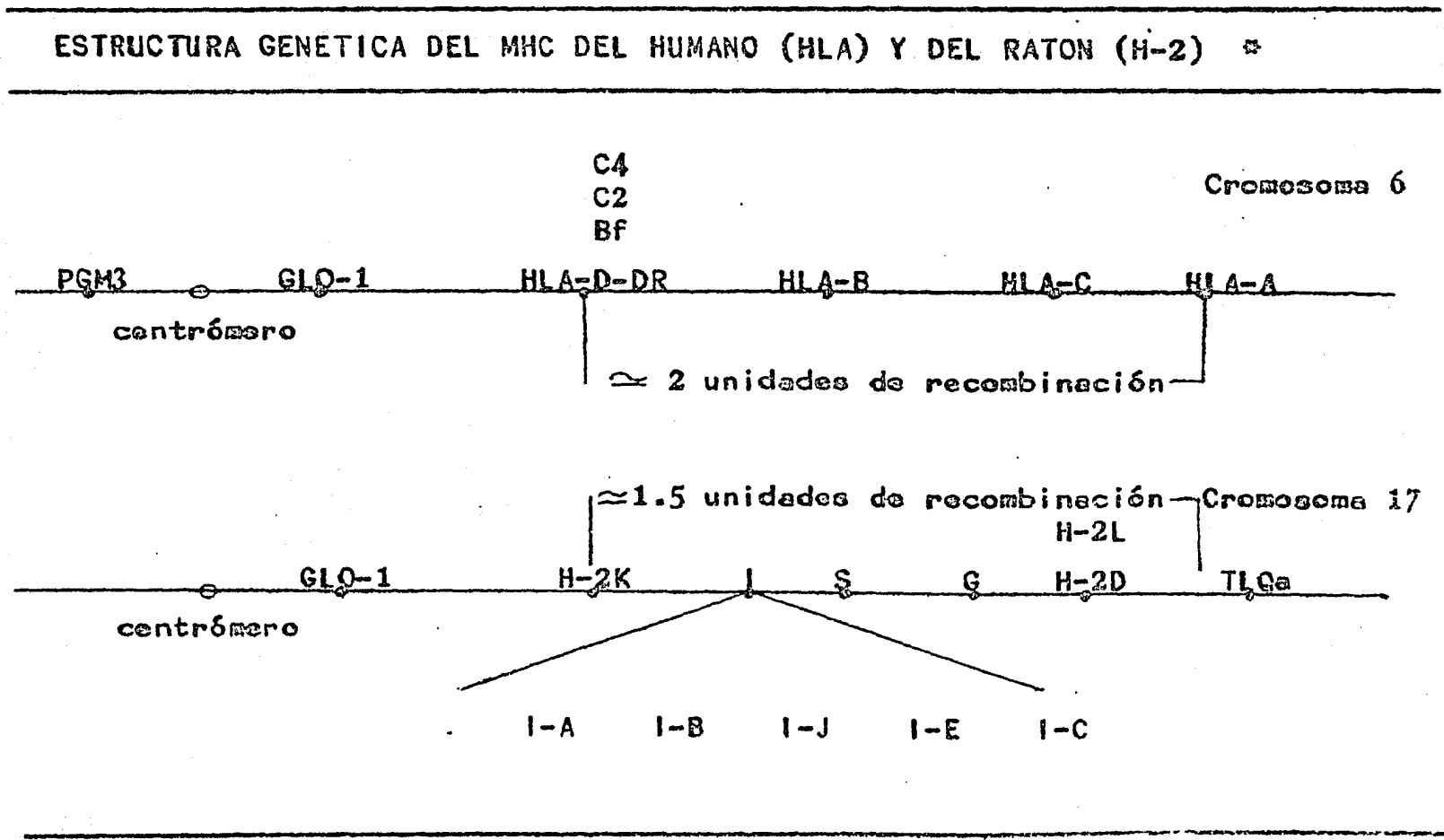
El MHC se encuentra localizado en los cromosomas 17 y 6 del ratón y el humano, respectivamente (Fig. 2, Parham, 30) y son los dos sistemas mejor definidos actualmente, aunque en todas las especies investigadas hasta la fecha se ha encontrado este complejo y se conoce su ubicación (31).

El MHC del ratón mide entre 0.5 y 0.8 cM, dependiendo de la cepa y contiene 5 regiones principales: H-2K, D, I, L y G. En el MHC humano se han descrito hasta ahora cinco regiones equivalentes, a saber: A, B, C, D y DR y mide aproximadamente 1.6 cM. Además, dentro de la región del MHC se encuentran los genes que codifican para la producción de dos de las proteínas de la vía clásica del complemento: C2 y C4, la producción del factor B de la vía alterna y algunas enzimas como la 21-hidroxilasa. Cerca de la región del MHC se encuentran localizados los genes que codifican para la fosfoglucomutasa 3 (Pgm 3), el pepsinógeno urinario (Pg5), la glioxalasa 1 (GLO), la enzima málica citoplasmática (ME-1) y la indoloxidasasa tetramérica (IPoB) (32).

C. Polimorfismo.

El MHC es el sistema genético de mayor polimorfismo que se conoce: para HLA se han descrito 20 alelos del locus A, 40 del locus B, 8 del C, 12 del D y 10 del DR (33), debido a esto los antígenos de histocompatibilidad son considerados marcadores de individualidad. El polimorfismo del MHC ha sido una limitante en la selección de donadores de órganos para transplantes pues resulta muy difícil encontrar dos individuos no relacionados familiarmente que sean idénticos (34). Por otro lado, este polimorfismo ha convertido al sistema HLA en la herramienta de elección para resolver problemas legales como la exclusión de la paternidad (35). La distribución de frecuencias de los alelos HLA es diferente en distintos grupos étnicos (36) y, por esto el MHC ha cobrado gran importancia para estudios antropológicos (el conocimiento del polimorfismo ha permitido conocer ancestralmente a las poblaciones humanas).

FIGURA 2



* Tomado de Parham (30).

D. Desequilibrio de Unión o Ligamiento.

Se ha demostrado que algunos genes del MHC ocurren en el mismo cromosoma más frecuentemente de lo que se esperaría en base al azar. Esto se llama Desequilibrio de Unión o Ligamiento (DU) y un ejemplo de él es el que presentan los antígenos A1 y B8 dentro del Haplotipo A1, B8, Dw3, DR3 en la población caucásica europea; las frecuencias de cada uno de ellos son de 0.17 y 0.11 para el A1 y el B8 respectivamente, por lo que se esperaría encontrarlos juntos en una frecuencia de $0.17 \times 0.11 = 0.0187$; sin embargo, la combinación tiene una frecuencia en esta población de 0.097 (31). Una de las causas del DU podría ser la postulada por Fisher en 1930 (37): la selección natural opera favoreciendo la coexistencia de dos genes cuando éstos actúan positivamente de manera coordinada, sobre la capacidad de sobrevivir de una especie. Debido a que algunas actividades biológicas que están controladas por los genes del MHC tienen consecuencias importantes sobre la supervivencia, esta explicación parece razonable.

E. Estructura de los Antígenos de Histocompatibilidad.

Los productos de los loci K, D y L del ratón y A, B y C del humano son glicoproteínas de membrana formadas por una cadena de 45 a 48 kd (cadena pesada) asociada a una cadena polipéptica más pequeña llamada beta-2-microglobulina de 12 kd (cadena ligera) (38). La aloespecificidad de estos antígenos reside en la cadena pesada y se encuentran en todas las células nucleadas del organismo.

Los productos de los loci I en el ratón y D/DR en el humano son glicoproteínas formadas por dos cadenas polipeptídicas de 34 kd (cadena alfa) y 28 kd (cadena beta). En la parte protéica de esta última reside la aloespecificidad de los antígenos. Se encuentran preferencialmente integrados a la membrana de linfocitos B, monocitos, células endoteliales y epidérmicas y en espermatozoides, así como en algunas poblaciones de linfocitos T estimulados y subpoblaciones como los linfocitos T supresores y cooperadores, algunos tumores malignos como el melanoma y en las células de la glándula mamaria durante la lactancia (39).

F. Funciones del MHC.

El MHC fue descubierto por la observación del rechazo de transplantes; sin embargo, este fenómeno no ocurre normalmente en la naturaleza, por lo que el papel biológico del MHC no se conocía hasta que Zinkernagel (40), por un lado y Shearer (41), por otro, descubrieron el fenómeno de restricción para H-2 en la lisis mediada por Linfocitos T Citotóxicos (LTCs) de células infectadas por virus: ellos encontraron que

para que se llevara a cabo la lisis, ambos tipos celulares debían compartir cuando menos uno de los antígenos de histocompatibilidad de los loci K o D del H-2. Este fenómeno se ha observado también en células cuyas moléculas de superficie han sido modificadas y en tumores (42). El fenómeno de restricción ya ha sido observado en el sistema HLA (43).

Existen dos teorías para explicar el fenómeno de restricción para el MHC: 1) la teoría del "yo modificado" que postula que los LTCs poseen un receptor que reconoce a los productos del MHC modificados por asociación con antígenos extraños (virales, tumorales, etc) y que explicaría la reacción de alotransplante y, 2) la teoría del receptor dual que supone la existencia de dos receptores para los productos del MHC y para el antígeno extraño por separado (44).

Además del reconocimiento de células alogénicas, tumores y células modificadas químicamente o por virus, se han empezado a describir otros fenómenos que parecen estar bajo el control del MHC, tales como las interacciones entre linfocitos B y T necesarias para la supresión o la cooperación inmunológicas, el reconocimiento mutuo entre macrófagos que presentan al antígeno y linfocitos T, la adhesión o la inhibición del contacto entre células no inmunológicas como fibroblastos e, incluso, el apareamiento preferencial en el ratón. En casi todos los casos, se requiere el contacto intercelular para que se produzca el fenómeno subsecuente (la supresión, la adhesión, etc). (45).

Por otro lado se sabe que el MHC está involucrado en la regulación de los niveles séricos de algunos componentes del C, codificados dentro del sistema, así como en la capacidad de responder a antígenos exógenos codificada en los genes Ir (de respuesta inmunológica) que en el ratón dan origen a los antígenos Ia y en el humano probablemente a los antígenos DR u otras proteínas codificadas dentro de esta región. (28, 31).

Parece pues, que el MHC está involucrado de manera general en el fenómeno del autoreconocimiento y la regulación de la respuesta inmunológica, lo que lo ha convertido en foco de atención para diversos grupos de investigación biomédica, debido a las consecuencias patológicas de las alteraciones de este sistema.

G. Asociación del MHC y las Enfermedades.

Uno de los hallazgos más importantes surgidos del estudio del MHC es la asociación existente entre algunas enfermedades y ciertos antígenos de histocompatibilidad. El primer hallazgo se debe a Lilly (46), quién en 1965 demostró que algunas cepas de ratón eran especialmente susceptibles al virus de la leucemia murina y que uno de los genes de susceptibilidad está ligado al MHC. En humanos se reconocen actualmente 40 enfermedades asociadas al HLA (47), muchas de las cuales presentan carac-

terísticas de autoinmunidad. La asociación más intensa que se ha encontrado es la existente entre la espondilitis anquilosante y el antígeno B27 en sujetos de cualquier origen racial. Más aún, en la población caucásica se ha encontrado que el 90-95% de los pacientes con esta enfermedad son portadores del antígeno B27.

Las enfermedades asociadas a HLA se han clasificado en cuatro grupos:

1) Enfermedades asociadas al locus A. El ejemplo que se conoce es la hemocromatosis idiopática, que es un error en el metabolismo del hierro y se encuentra asociada al antígeno A3 y segrega con él (48).

2) Enfermedades asociadas al locus B. Existen varias enfermedades asociadas al locus B, sobre todo al antígeno B27, que se presenta con gran frecuencia en enfermedades como la mencionada espondilitis anquilosante (49), el síndrome de Reiter, la artritis reumatoide juvenil, la uveítis anterior aguda y la psoriasis artrítica con manifestaciones lumbares, lo que sugiere que el antígeno B27 o algo muy ligado a él está involucrado en el desarrollo de este tipo de enfermedades (47).

3) Enfermedades asociadas al locus C. La mejor conocida es la psoriasis vulgar asociada al antígeno Cw6 (50).

4) Enfermedades asociadas al locus D/DR. Este grupo se ha dividido a su vez en cuatro subgrupos, dependiendo del antígeno involucrado:

a) Enfermedades asociadas al haplotipo A3, B7, Dw2, DR2 como la esclerosis múltiple en la que se ha encontrado una coincidencia entre la distribución geográfica del padecimiento y el haplotipo mencionado (31).

b) Enfermedades con manifestaciones autoinmunes como la enfermedad de Addison, el síndrome de Sjogren, el lupus eritematoso disseminado y otras que se encuentran fuertemente asociadas al antígeno DR3 o al haplotipo A1, B8, Dw3, DR3 (50).

c) Asociaciones con el antígeno Dw4 y más fuertemente con el DR4 como la existente en la artritis reumatoidea del adulto (51).

d) Otro grupo de padecimientos autoinmunes que presentan asociaciones con los antígenos Dw5/DR5, como la anemia perniciosa y la tiroiditis de Hashimoto (52).

Los mecanismos moleculares responsables de la asociación entre las distintas enfermedades y el MHC, no se conocen bien en parte debido a que muchos padecimientos son muy heterogéneos y a que la susceptibilidad puede ser resultado de más de un locus genético. Sin embargo se han propuesto algunos mecanismos para explicar estas asociaciones:

1) Los antígenos de histocompatibilidad como receptores del agente patógeno. Se ha postulado que los propios antígenos de histo-

compatibilidad pueden funcionar como receptores de moléculas patógenas dando origen a la enfermedad, como por ejemplo la enteropatía por sensibilidad al gluten, donde se ha encontrado que anticuerpos anti-B8 bloquean la unión de la gliadina a su receptor, que es la responsable de la formación de autoanticuerpos anti-células del epitelio gástrico (31).

2) Mimetismo molecular. Un agente patógeno puede tener antígenos superficiales que crucen inmunológicamente con los antígenos de histocompatibilidad del individuo, impidiendo que se desarrolle una respuesta inmunológica adecuada para la eliminación del patógeno. Dos ejemplos de éstos parecen ser Klebsiella en sujetos con espondilitis anquilosante, portadores del antígeno B27 (53) y Schistosoma mansoni en el ratón que tiene en su superficie los antígenos H-2 del haplotipo del huésped, detectados por inmunofluorescencia y cuya presencia correlaciona con una disminución de la capacidad de fijar anticuerpos anti-parásito in vitro (54); además se ha demostrado que los LTCs son capaces de adherirse a la superficie del parásito, cubierta por los antígenos H-2, pero no la lisan (55).

3) Desequilibrio de Unión (DU) con los verdaderos loci de susceptibilidad. Se sabe que, por lo menos en parte, la respuesta inmunológica está controlada por el MHC. La asociación entre un antígeno del MHC y una enfermedad puede deberse a DU entre el antígeno y un gene de respuesta inmunológica anormal. Así mismo, las deficiencias en alguno de los componentes del C o en la 21-hidroxilasa presentan DU con alguno o algunos de los antígenos del MHC (56), convirtiendo a la tipificación del HLA en una herramienta muy útil para la detección de individuos susceptibles a ciertas enfermedades.

La relación entre las enfermedades tumorales y virales y el MHC, se conoce más o menos bien para el ratón, además de que ya existe evidencia de que también se presenta en los humanos (43). Sin embargo, no ha sido sino hasta hace poco tiempo que se ha empezado a encontrar evidencia de susceptibilidad genética a las enfermedades parasitarias asociadas al MHC. Trabajando con cepas de ratón genéticamente puras y cruza de éstas, se ha encontrado que existen genes autosomales de resistencia a Trichinella spiralis (57), Nippostrongylus brasiliensis (58) y Trypanosoma rhodesiense (59), dentro y fuera del MHC y que normalmente la susceptibilidad a estas infecciones está bajo control poligénico; para T. rhodesiense se encontró además un gene de resistencia asociado al cromosoma X. Mitchel encontró, en un modelo de ratón análogo a los descritos, que existen diferencias en susceptibilidad a la infección por la larva de la Taenia taeniaeformis debidas, por lo menos en parte, al MHC (60).

En humanos existen aún pocas evidencias de relación entre las enfermedades infecciosas y el HLA; sin embargo se sabe que existe un haplotipo de HLA predominante en la zona endémica del paludismo

que correlaciona con altos títulos de anticuerpos anti Plasmodium falciparum (61). Así mismo, la esplenomegalia, una de las manifestaciones más importantes de la infección con Shistosoma mansoni está asociada fuertemente a los antígenos A1 y B5 en niños egipcios. De particular interés es la presencia de factores séricos en estos pacientes, que específicamente inhiben la capacidad de los linfocitos de responder in vitro contra antígenos parasitarios; esta pérdida de respuesta parece ser resultado de la aparición de células supresoras específicas. Duquesnoy y col. (62), encontraron cierta asociación entre una supuesta histoplasmosis ocular y los antígenos B7 y DR2.

En relación a cisticercosis cerebral humana, Gorodezky y col. hicieron un estudio para analizar la posibilidad de que este padecimiento esté asociado al MHC, pero no encontraron ningún antígeno especialmente elevado en la población de cisticercosos (63).

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Aún en presencia de anticuerpos anticisticercos en el suero de al menos el 85% de los pacientes con neurocisticercosis, estos parásitos llegan a sobrevivir, por períodos prolongados, en su huésped sin sufrir daño aparente. Una posible explicación a esto es que los anticuerpos de los pacientes no lleguen al sitio donde se instala el parásito o bien que, aunque lleguen y lo reconozcan, no le produzcan daño por ser de subclases incapaces de fijar C, esto es, que sean anticuerpos bloqueadores.

Alternativamente (no excluyentemente), el cisticercos puede estar enmascarado con antígenos del humano adsorbidos a su superficie o mimetizado con determinantes antigénicos parasitarios similares a antígenos del huésped, en especial los antígenos de histocompatibilidad, que debido a su importancia en los fenómenos de autoreconocimiento, podrían hacer parecer al parásito como un "transplante compatible" con el huésped.

El primer objetivo de este trabajo fue demostrar, por medio de inmunofluorescencia sobre cortes frescos de cisticercos humanos de diferentes órganos, la presencia de IgG humana en la superficie así como probar la capacidad de estas inmunoglobulinas de fijar complemento.

El segundo objetivo fue demostrar, también por inmunofluorescencia, la presencia de HLA en la superficie de los cisticercos.

MATERIAL Y METODOS

Cisticercos.

Los cisticercos utilizados en este trabajo, fueron extirpados por cirugía de diferentes órganos de humanos parasitados y donados por el Dr. I. Madrazo, del Departamento de Neurocirugía del Hospital de Especialidades del Centro Médico La Raza (IMSS), el Dr. V. M. Trujillo, del Laboratorio de Investigaciones Inmunológicas del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales (ISET), SSA y el Dr. Alejandro Dalma, de la Asociación para Evitar la Ceguera en México (APEC).

Se utilizaron seis cisticercos cerebrales (tres parenquimatosos y tres intracavitarios), tres oculares (un subretiniano y dos intraoculares), uno del nervio óptico, un subcutáneo y un muscular. Las muestras se incluyeron en Tissue Teck II (Ames) lo más pronto posible después de la operación, se congelaron y se guardaron a -20°C . Posteriormente se hicieron cortes por congelación de aproximadamente seis μm de grosor en un crióstato (Cryo-cut American Optical), que se usaron para los experimentos de inmunofluorescencia. Se colocaron sobre portaobjetos recubiertos con albúmina al 1% (peso/volumen), secados al aire y se congelaron por un mínimo de 48 horas antes de ser usados.

Tipificación de Antígenos HLA.

La sangre de los pacientes a quienes se les extrajeron los cisticercos fueron tipificadas para antígenos HLA en el laboratorio de Investigaciones Inmunológicas del ISET, SSA, por el método estándar de microlinfocitotoxicidad (64). Brevemente se obtuvieron 20 ml de sangre a los cuales se les adicionó anticoagulante, se estratificaron sobre una solución de Ficoll-Hypaque (Pharmacia) y se centrifugaron a 1500 rpm durante 30 min. Se separó la fracción blanca, rica en células mononucleares (90-95% de linfocitos) de la interfase y se lavó con solución Hank's varias veces. Los linfocitos B se separaron del resto de las células T por medio de una columna de nylon, en la que se incubaron 30 min a 37°C . Los linfocitos B se adhieren a la columna, de manera que los T se eluyeron con medio hasta obtener una solución transparente. Para eluir los linfocitos B se oprimió fuertemente la columna desprendiéndolos del nylon. Posteriormente se les agregó una gota de trombina para eliminar las plaquetas y los polimorfonucleares que hubieran quedado. Se obtuvo un grado de pureza de 85-95% de células B.

Se colocaron 2000 células de cada pozo de una micropla-

ca, previamente llenada con antisueros anti HLA (en cada pozo una especificidad). En las cajas con antisueros específicos para los loci A, B y C, se colocaron los linfocitos T. En las cajas con los antisueros específicos para el locus DR se colocaron los linfocitos B. Las primeras se incubaron a 37°C 30 min y las segundas a temperatura ambiente 1 hr. A las cajas A, B y C se les adicionaron 5 ul/pozo de medio RPMI, se agitaron, se dejaron sedimentar durante 10 min y se decantaron. Para DR este paso se omitió.

Se agregaron 5 ul/pozo de suero de conejo normal como fuente de C y se incubaron las cajas A, B y C a 37°C durante 1 hr., y las DR a temperatura ambiente durante 2 hr. Se agregaron 5 ul/pozo de solución de eosina al 3% pH 7 y se agitó dejando reposar después 3-5 min. Se agregaron 5 ul/pozo de formol al 34% pH 7.4. La cuenta de linfocitos vivos y muertos se llevó a cabo en un microscopio invertido a 250 aumentos con contraste de fases. Un alto grado de mor - talidad indica la presencia de la especificidad en la superficie de los linfocitos tipificados, reconocida por el antisuero particular de este pozo.

Sueros anti HLA.

Los sueros anti HLA utilizados en los experimentos fueron obtenidos de mujeres multíparas y analizados también por la prueba de microlinfocitotoxicidad para determinar su especificidad, en laboratorio de la Dra. Gorodezky. En la Tabla I se enlistan los sueros utilizados así como su especificidad y la dilución a la que se emplearon en base a su actividad en la prueba de microlinfocitotoxicidad:

TABLA I
SUEROS ANTI HLA EMPLEADOS EN LOS EXPERIMENTOS
DE INMUNOFLUORESCENCIA

CODIGO DE SUEROS	ESPECIFICIDAD	DILU' ON
M-2	A25, B7, B13	1:3
M-28	A19 (30, 31), B15, DR8, DR5	1:3
M-35	B35	1:5
M-41	A9 (23, 24), A1, B38	1:3
M-47	Bw4	1:1
M-69	A2	1:1
M-173	Cw1	1:1
M-200	B7	1:2

Nota: El código es la forma de identificar a cada uno de los sueros obtenidos en el laboratorio de la Dra. Clara Gorodezky.

Absorción de los antisueños anti HLA - A, B y C.

Con el fin de eliminar la actividad anti HLA de los antisueños utilizados, se hicieron absorciones de la manera siguiente:

Se mezclaron cuidadosamente los antisueños con un volumen igual de plaquetas empaquetadas obtenidas de donadores múltiples. Se incubaron durante 20 min a 20°C con agitación lenta y se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 min. Se hicieron dos absorciones más para cada suero y se probó el grado de absorción por medio de la prueba de linfocitotoxicidad. Estas absorciones solo quitan la actividad contra los antígenos de los loci A, B y C, ya que las plaquetas no tienen antígenos de los loci D y DR en la superficie.

Inmunoglobulinas.

Se utilizaron inmunoglobulinas de conejo dirigidas contra IgG humana comerciales (Bio-rad), e inmunoglobulinas de chivo dirigidas contra IgG humana, por un lado, y contra el fragmento C3b del C, por el otro, donadas por el Dr. Rubén Martínez del Departamento de Inmunología del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chavez".

Disgestión de inmunoglobulinas con Papaína para obtener fragmentos Fab.

Una parte de las inmunoglobulinas anti IgG humana se utilizó para producir fragmentos Fab por medio del método de Porter (65), que consiste en incubar las IgGs, con papaína 100:1 (peso:peso) en una solución amortiguadora de fosfatos 0.01 M pH 7.2 en presencia de L-cisteína 0.01 M y EDTA 0.02 M a 37°C durante 16 hr. Inmediatamente se dializa contra H₂O bidestilada dos veces y contra solución salina 0.15 M, amortiguada con fosfato de sodio 0.015 M pH 7.4 (PBS), otras dos veces. Los fragmentos Fab se separaron por medio de una columna de afinidad de Proteína A acoplada a Sefarosa que retiene a los fragmentos Fc y a las gamaglobulinas no digeridas por la papaína; los fragmentos Fab se obtuvieron eluyendo con PBS y el resto del producto de la digestión se obtuvo eluyendo con una solución amortiguadora de glicina 0.1 M pH 2.9.

Acoplamiento de inmunoglobulinas a isotiocianato de fluoresceína.

El acoplamiento de las Igs a isotiocianato de fluoresceína se hizo por medio de una ligera modificación del método de Rinderknecht (66): las Igs se mezclaron 1:1 (vol:vol) con una solución amortiguadora de carbonatos 0.05 M pH 8.5 y 5-10 mg de celita (SIGMA) que contiene isotiocianato de fluoresceína al 10%, y se agitaron durante 30 min a 4°C. Se centrifugó a 1500 rpm durante 5 min y el sobrenadante se dializó contra PBS varias veces. La relación molar fluoresceína/proteína (F/P)

y la concentración de proteína en mg/ml, se calcularon leyendo una alícuota de las muestras a 493 nm y 280 nm y usando las siguientes ecuaciones:

$$F/P = \frac{2.87 \times A_{495}}{A_{280} - 0.35 A_{495}}$$

$$P \text{ (mg/ml)} = \frac{A_{280} - 0.35 A_{495}}{1.4}$$

Las Igs anti IgG humana, tuvieron una relación molar F/P de 1.0 y una concentración de 16 mg/ml; las Igs anti C3b, tuvieron una concentración de 18.6 mg/ml y una relación molar F/P de 0.93.

Experimentos de Inmunofluorescencia.

A) Detección de IgG humana en la superficie de los cisticercos. Los cortes se incubaron con los anticuerpos anti IgG humana fluoresceinados a tres diluciones diferentes, en presencia de azul de Evanz, a 0.0025% para disminuir la autofluorescencia, durante 15 min a temperatura ambiente; después se lavaron 5 veces con PBS y se montaron en glicerol/PBS 4/1 (vol/vol) para ser analizados al microscopio de epifluorescencia Zeiss. La especificidad de la reacción anterior se probó haciendo una incubación previa de los cortes con los fragmentos Fab anti IgG no fluoresceinados en cantidades que variaron entre 100 y 400 ug por corte, durante 30 min a temperatura ambiente, seguida de 5 lavados con PBS.

B) Evaluación del papel del C en la cisticercosis humana. Con el fin de determinar si la superficie de los cisticercos tiene C3b los cortes se incubaron con 35 µg/corte de los anticuerpos anti-C3b fluoresceinados, durante 30 min a temperatura ambiente en presencia de azul de Evanz a 0.0025%, después de lo cual se lavaron y se montaron de manera análoga a la descrita anteriormente. Para determinar si las Igs de la superficie parasitaria son capaces de fijar C, se hizo una incubación previa a la anterior con suero humano normal (preservado a -70°C), diluido 1:10 como fuente de C durante 30 min a 37°C, utilizando el suero activo o inactivado previamente a 56°C durante 1 hr para discernir entre fijación por vía clásica y alterna (67).

C) Búsqueda de HLA en la superficie de los cisticercos. Se incubaron los cortes con 100-400 ug/corte de los fragmentos Fab anti-IgG humana durante 30 min a temperatura ambiente para bloquear los determinantes antigénicos de la IgG presentes en la superficie de los parásitos y se lavaron 5 veces con PBS. Después se hizo una incubación con los antisueros anti HLA del huésped (uno para cada antígeno de histocompatibilidad), tanto absorbidos con plaquetas como no absorbidos, con el fin de determinar la especificidad de la reacción. Se reveló incubando con anti IgG humana fluoresceinada a 100 ug/corte en presencia de azul de Evanz al 0.0025% durante 15 min a temperatura ambiente; después de 5 lavados

con PBS se montaron, como ya se describió, para ser analizados al microscopio de epifluorescencia.

Análisis de los experimentos de inmunofluorescencia.

Todos los experimentos de inmunofluorescencia fueron examinados por tres sujetos (generalmente fueron los mismos) a quienes se les pidió que compararan el grado de fluorescencia de las diferentes laminillas adjudicándoles un número entre 0 y 4 en experiencias de doble ciego.

Así mismo se tomaron microfotografías de todas las laminillas a 100 y 400 aumentos con una película ASA 400.

RESULTADOS

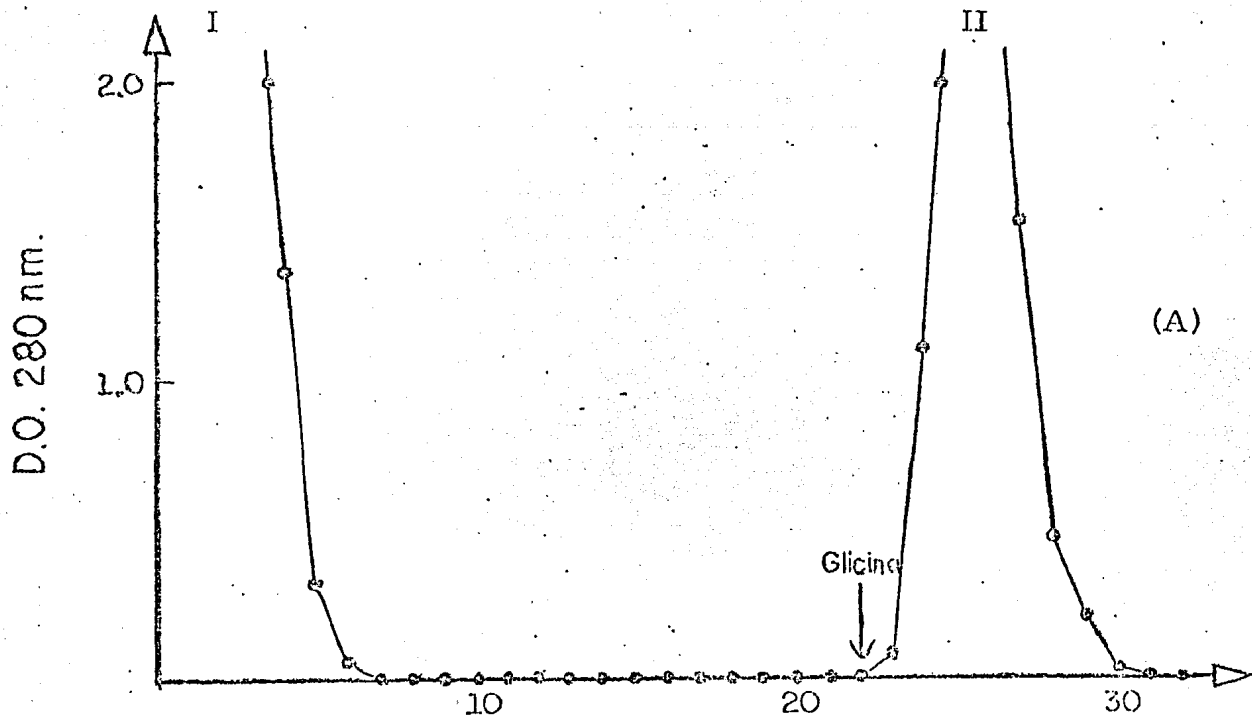
A) PRODUCCION DE Fab ANTI IgG HUMANA .

Con el fin de bloquear los determinantes de IgG humana en la superficie de los cisticercos, se produjeron fragmentos Fab de los anticuerpos anti-IgG humana no fluoresceinados. En la figura 3A se muestra una gráfica representativa de la separación de los fragmentos Fab del resto del producto de la digestión, por medio de una columna de afinidad de Proteína A acoplada a Sefarosa. En el primer pico se obtienen los fragmentos Fab y la papaína residual, mientras que en el segundo se obtiene eluyendo con una solución de glicina 0.1 M pH 2.9 y corresponde a los fragmentos Fc de las Igs digeridas y a las gamaglobulinas completas.

En la figura 3B se muestra un gel de poliacrilamida-SDS al 11% del producto de digestión (carril 1) y los picos I y II de la columna de afinidad (carriles 4 y 2 respectivamente) en ausencia de beta-mercaptoetanol, así como de un estándar de peso molecular (carril 5). Pueden observarse en los carriles 1 y 2 tres bandas de peso molecular mayor a 100 kd (gamaglobulinas no digeridas), una banda de alrededor de 60 kd (fragmentos Fc) y otra banda pequeña de aproximadamente 25 kd (que probablemente corresponde a cadenas sencillas de los fragmentos Fc). En los carriles 1 y 4 pueden observarse dos bandas de 50 y 23 kd (que corresponden a los fragmentos Fab y a la papaína respectivamente). Para probar que la banda de 50 kd es la unión de dos proteínas de 25 kd, unidas por puentes disulfuro (lo que se esperaría de los fragmentos Fab), se corrió una muestra del pico I en presencia de beta-mercaptoetanol (carril 3), donde puede observarse una banda de menor peso molecular (entre 23 y 30 kd).

Los rendimientos obtenidos de distintas digestiones se muestran en la Tabla II. Los cálculos se hicieron en base a los miligramos de Fab obtenidos, considerándolos como las dos terceras partes de las Igs digeridas. El rendimiento expresa el % de Igs que fueron separables por la columna de afinidad como Fab. Como puede observarse se obtuvieron rendimientos que van desde 4.2% hasta 45.8%.

FIGURA 3



Fracción N°

El pico I se obtiene eluyendo con PES y corresponde a los fragmentos Fab y la papaína residual; el pico II se eluye con Glicina 0.1 M pH 2.9 y corresponde a los fragmentos Fc y las Igs no digeridas.

Carriles 1 y 2: producto de digestión de Igs con papaína y pico II de la columna de afinidad, respectivamente; Carriles 3 y 4: pico I de la columna en presencia y ausencia de beta-mercaptoetanol respectivamente; Carril 5: estándar de peso molecular: 1) 90 kd, 2) 68 kd, 3) 43 kd, 5) 29 kd y 6) 14 kd.

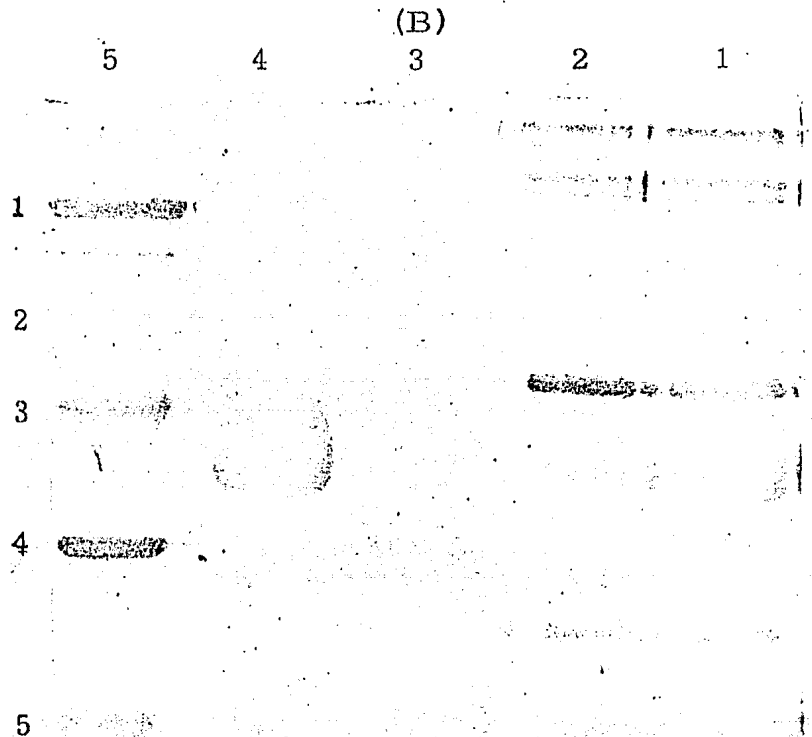


TABLA II
RENDIMIENTOS DE DISTINTAS DIGESTIONES DE IgG

Experimento	mg IgG inicial	mg Fab's	mg IgG digeridas	Rendimiento (%)
1	50.0	12.5	19.0	38.0
2	150.0	25.2	38.3	25.5
3	31.0	3.0	4.5	14.8
4	63.0	1.8	2.7	4.2
5	40.8	1.6	2.4	5.8
6	19.2	5.9	8.8	45.8
7	24.7	2.1	3.1	12.5

B) DATOS CLINICOS DE LOS PACIENTES Y FENOTIPO DE HLA.

En la Tabla III se muestran algunos datos de los pacientes a quienes se les extirparon los cisticercos utilizados en el presente trabajo, así como la tipificación de sus antígenos de histocompatibilidad.

La edad de los pacientes osciló entre los 14 y 59 años de edad y el 70% de ellos se encuentran entre los 20 y 40 años; así mismo, el 78% de los pacientes son hombres. En los fenotipos de HLA se observa un alto porcentaje de algunos de ellos (A2, por ejemplo) sin embargo, en un estudio realizado en 1982 (64), sobre la asociación entre HLA y cisticercosis, utilizando una población mucho mayor de pacientes, no se encontró ningún antígeno significativamente elevado en comparación a la población normal del país.

C) LOS CISTICERCOS.

En la figura 4 se muestran dos microfotografías de un corte del cisticerco 2504, teñido con hematoxilina y eosina y fotografiado a 100 y 400 aumentos con el fin de mostrar un ejemplo representativo del grado de conservación de la pared de los parásitos usados.



100 x

FIGURA 4

400 x

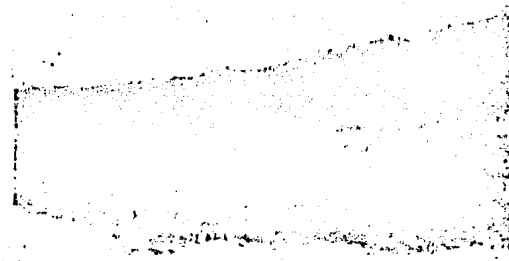


TABLA III

DATOS CLINICOS Y FENOTIPO DE HLA DE LOS PACIENTES.

PACIENTE	EDAD (años)	SEXO	LOCALIZACION CISTICERCO	HAPLOTIPO DE HLA	HOSPITAL DE PRO- CEDENCIA.
2219	31	F	Región parietal izq. Parenquim.	A25, A28, B7, B35, B49 Bw6, Cw3, Cw4, DR3	La Raza
2504	28	M	Región parietal der. Parenquim.	A2, A25, Bw44, Bw63, Bw4 DR1, DR8, Cw1	La Raza
2424	36	M	Lóbulo Frontal izq. Parenquim.	A24, B45, Bw4, Bw6, Cw3, DR6, DR7.	La Raza
2534	32	M	Cisternas basa- les (SNC).	A9, Aw31, B7, Bw35, Bw6 Cw3, Cw7, DR2	La Raza
2648	57	F	IV Ventriculo (SNC)	A2, Aw24, B18, Bw44, Bw4, Bw6, Cw2, Cw3, DR2, DR4	La Raza
2066	37	M	Nervio óptico	A2, A25, B18, B35, Bw6, Cw1, Cw2, DR6, DR7	La Raza
2955	32	M	Subretiniano	A2, A28, B12, B63, Bw4, Bw6 Cw1, Cw3, DR4,	APEC
2708	59	M	Subcutáneo	A2, A11, B35, B13, Bw4, Cw4 DR3, DR7	ISET
2947	39	M	1 muscular y 1 intraocular	A2, A3(?), B35, B12, Bw4, Bw6, Cw7, DR2, DR7	APEC
2812 *	14	M	Intraocular	—	APEC

* No fue posible su titpificación.

TABLA III

DATOS CLINICOS Y FENOTIPO DE HLA DE LOS PACIENTES.

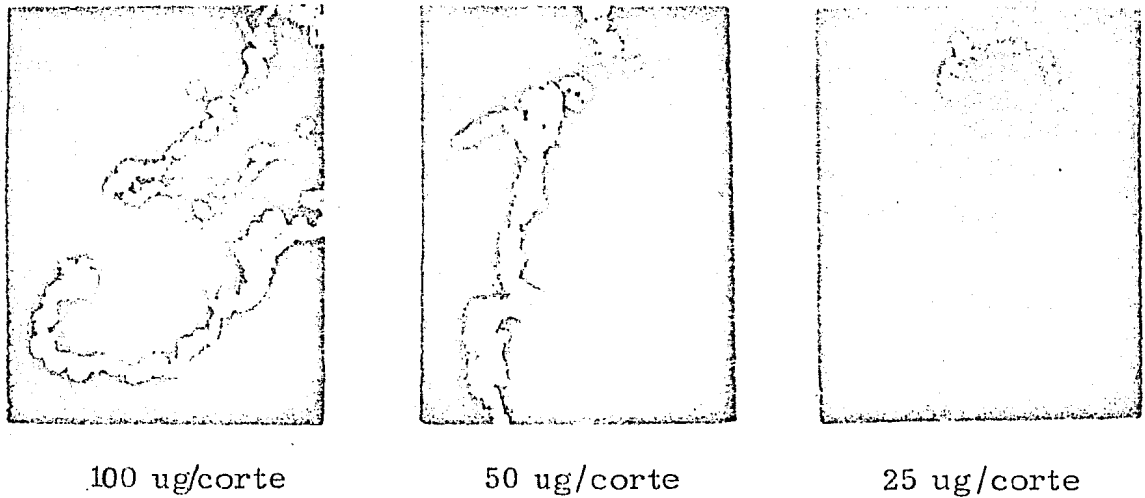
PACIENTE	EDAD (años)	SEXO	LOCALIZACION CISTICERCO	HAPLOTIPO DE HLA	HOSPITAL DE PRO- CEDENCIA.
2219	31	F	Región parietal izq. Parenquim.	A25, A28, B7, B35, B49 Bw6, Cw3, Cw4, DR3	La Raza
2504	28	M	Región parietal der. Parenquim.	A2, A25, Bw44, Bw63, Bw4 DR1, DR8, Cw1	La Raza
2424	36	M	Lóbulo Frontal izq. Parenquim.	A24, B45, Bw4, Bw6, Cw3, DR6, DR7.	La Raza
2534	32	M	Cisternas basa- les (SNC).	A9, Aw31, B7, Bw35, Bw6 Cw3, Cw7, DR2	La Raza
2648	57	F	IV Ventrículo (SNC)	A2, Aw24, B18, Bw44, Bw4, Bw6, Cw2, Cw3, DR2, DR4	La Raza
2066	37	M	Nervio óptico	A2, A25, B18, B35, Bw6, Cw1, Cw2, DR6, DR7	La Raza
2955	32	M	Subretiniano	A2, A28, B12, B63, Bw4, Bw6 Cw1, Cw3, DR4,	APEC
2708	59	M	Subcutáneo	A2, A11, B35, B13, Bw4, Cw4 DR3, DR7	ISSET
2947	39	M	1 muscular y 1 intraocular	A2, A3(?), B35, B12, Bw4, Bw6, Cw7, DR2, DR7	APEC
2812 *	14	M	Intraocular	—	APEC

* No fue posible su titificación.

D) PRESENCIA DE IgG HUMANA EN LA SUPERFICIE DE LOS CISTICERCOS.

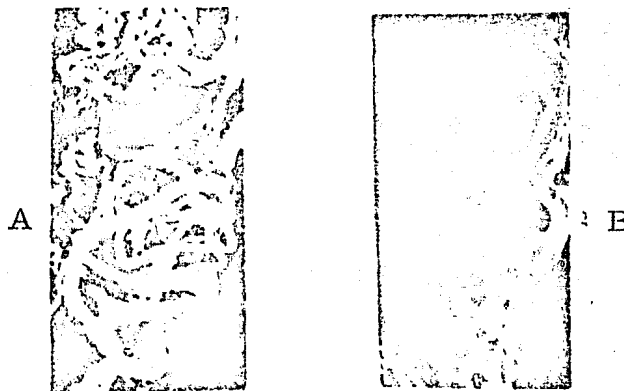
En la figura 5 se muestra el efecto de la cantidad de anticuerpos anti-IgG fluoresceinados sobre la intensidad de la luz detectada en la superficie del cisticercos 2812; como puede observarse, con 25 ug/corte ya no se observa una reacción claramente positiva.

FIGURA 5



En la figura 6 se muestra la reacción con los anticuerpos anti-IgG fluoresceinados (A) y el bloqueo de ésta con los fragmentos Fab no marcados (B) en el cisticercos 2424; puede observarse que los fragmentos Fab fueron capaces de bloquear el pegado de los anticuerpos marcados, lo que sucedió con la mayoría de los cisticercos probados (ver tabla IV).

FIGURA 6



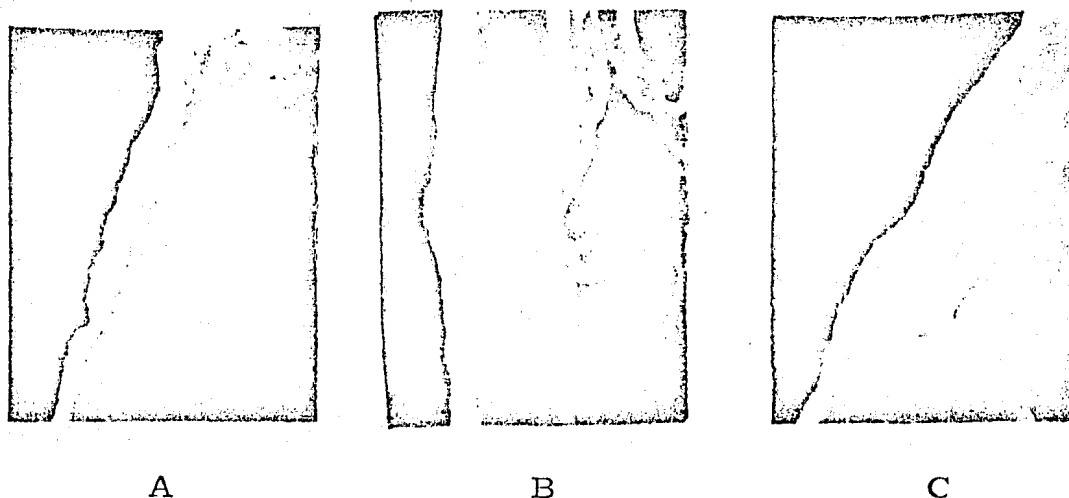
En la tabla IV se muestran los resultados de presencia de anticuerpos anti-cisticerco en el suero de los pacientes, la quimioterapia a la que se sometieron y la localización del parásito en el cuerpo, así como las calificaciones de tres observadores en experiencias de doble ciego y la media de éstas, de cortes incubados con tres diluciones de gamaglobulinas anti-IgG fluoresceinadas, del bloqueo con los fragmentos Fab de la más concentrada y de la fluorescencia de los cisticercos incubados sólo con azul de Evanz.

Como puede observarse, la mayor parte de los cisticercos son positivos cuando se incuban con anti-IgG fluoresceinada, reacción que se bloquea, en la mayor parte de los casos, con los fragmentos Fab; la positividad no parece estar relacionada a la presencia de anticuerpos anti-cisticerco en suero, a la presencia o ausencia de tratamiento inmunosupresor o a la localización del cisticerco en el cuerpo humano.

E) FIJACION DE C EN LA SUPERFICIE DE LOS CISTICERCOS.

En las figuras 7 y 8 se muestran dos ejemplos de la fluorescencia de dos cisticercos incubados con: A) anti-C3b fluoresceinados en presencia de azul de Evanz, B) Suero humano normal* diluido 1:10 como fuente de complemento, durante 30 min a 37°C, y C) Suero humano normal inactivado previamente por calor, diluido 1:10, durante 30 min a 37°C, revelando de manera análoga a la anterior.

FIGURA 7



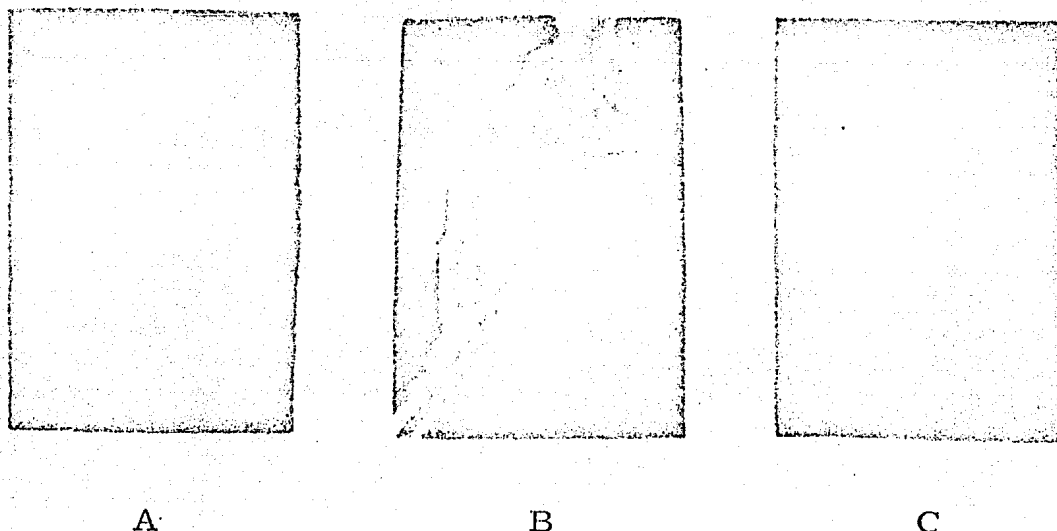
* Suero negativo por ELISA contra cisticerco de cerdo.

TABLA IV
PRESENCIA DE IgG EN LA SUPERFICIE DE LOS CISTICERCOS

Cisticerco.	Localización.	Tratamiento.	Incubación con:					A. E.*	& IEF
			anti-IgG 100 ug	anti-IgG 50 ug	anti-IgG 25 ug	Fab+anti-IgG 100 ug			
2219	Parenquimatoso.	Esteroides	2.0, 2.5, 2.0 $\bar{X}=2.2$	1.0, 1.0, 1.5 $\bar{X}=1.2$	0.0, 1.0, 2.0 $\bar{X}=1.0$	0.25, 1.0, 0.0 $\bar{X}=0.4$	0.0, 1.0, 2.0 $\bar{X}=1.0$	Neg	
2504	Parenquimatoso.	Esteroides	3.0, 2.0, 1.0 $\bar{X}=2.0$	0.5, 0.5, 0.5 $\bar{X}=0.5$	0.0, 0.5, 0.5 $\bar{X}=0.3$	1.0, 1.0, 0.5 $\bar{X}=0.8$	0.5, 0.0, 0.5 $\bar{X}=0.3$	—	
2424	Parenquimatoso.	Esteroides	0.5, 2.0, 2.5 $\bar{X}=1.2$	0.0, 1.0, 0.5 $\bar{X}=0.5$	0.0, 0.5, 0.0 $\bar{X}=0.2$	0.5, 0.25, 0.0 $\bar{X}=0.3$	0.5, 0.0, 0.5 $\bar{X}=0.3$	—	
2534	Cisternas	Esteroides	1.0, 0.5, 3.0 $\bar{X}=1.5$	1.5, 0.25, 1.0 $\bar{X}=0.9$	0.5, 0.25, 1.0 $\bar{X}=0.6$	0.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.0$	0.0, 0.25, 2.0 $\bar{X}=0.8$	Pos	
2648r [§]	IV Ventriculo.	Esteroides	1.5, 2.5, 1.5 $\bar{X}=1.8$	3.0, 2.0, 2.0 $\bar{X}=2.6$	0.5, 0.5, 0.5 $\bar{X}=0.5$	1.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.3$	1.0, 0.0, 1.0 $\bar{X}=0.6$	Neg	
2648c [#]	IV Ventriculo.	Esteroides	1.0, 3.0, 3.0 $\bar{X}=2.6$	0.5, 2.0, 2.0 $\bar{X}=1.8$	0.0, 1.0, 1.0 $\bar{X}=0.6$	0.0, 0.25, 0.0 $\bar{X}=0.1$	0.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.0$	Neg	
2066	Nervio óptico	Esteroides	4.0, 4.0, 4.0 $\bar{X}=4.0$	2.0, 0.0, 2.5 $\bar{X}=1.5$	1.0, 0.5, 1.5 $\bar{X}=1.0$	2.0, 3.0, 2.0 $\bar{X}=2.3$	ND ⁺	Pos	
2955	Subretiniano.	—	0.5, 0.5, 0.5 $\bar{X}=0.5$	ND	ND	0.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.0$	ND	Pos	
2708 ^c	Subcutáneo.	Metrifonato.	3.5, 3.5, 3.5 $\bar{X}=3.5$	1.0, 1.0, 1.0 $\bar{X}=1.0$	2.0, 2.5, 2.5 $\bar{X}=2.3$	2.0, 2.0, 2.0 $\bar{X}=2.0$	0.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.0$	—	
2947	Muscular	—	3.0, 2.0, 3.0 $\bar{X}=2.6$	1.5, 0.5, 1.5 $\bar{X}=1.2$	0.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.0$	0.5, 0.25, 0.0 $\bar{X}=0.2$	0.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.0$	Pos	
2947	Intraocular.	—	3.0, 2.0, 2.0 $\bar{X}=2.3$	ND	ND	ND	0.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.0$	Pos	
2812.	Intraocular.	—	4.0, 4.0, 4.0 $\bar{X}=4.0$	4.0, 4.0, 4.0 $\bar{X}=4.0$	2.0, 2.0, 3.0 $\bar{X}=2.3$	4.0, 4.0, 4.0 $\bar{X}=4.0$	0.0, 0.0, 0.0 $\bar{X}=0.0$	Neg	

*Todos los experimentos se hicieron en presencia de azul de Evans ; § racemoso ; # celuloso ; + ND: No determinado ; & IEF Inmunolectroforesis contra un extracto de cisticercos de cerdo.

FIGURA 8



En la tabla V se muestran las calificaciones y la media de tres observaciones en experiencias de doble ciego de los tres tipos de incubación ilustrados en las figuras 7 y 8. Los resultados mostraron cierto grado de heterogeneidad: 3 de 10 cisticercos no parecen tener C3b en la superficie (o muy poco) pero tienen la capacidad de fijar C cuando éste se les suministra en forma activa y lo hacen en mucho menor medida con el C inactivado por calor, lo que sugiere que la fijación es por vía clásica.

Un cuarto cisticercos no presentó C3b en la superficie pero fue capaz de fijar C con ambas fuentes, lo cual podría sugerir que este parásito fija C3b por vía alterna.

Los 6 cisticercos restantes parecen tener C3b en la superficie probablemente fijado in vivo por cualquier vía.

F) PRESENCIA DE ANTIGENOS HLA EN LA SUPERFICIE DE LOS CISTICERCOS.

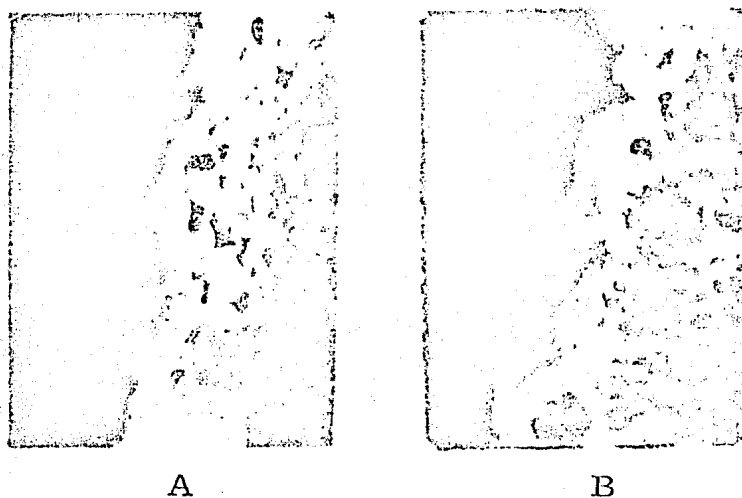
En las figuras 9 y 10 se muestran dos ejemplos de dos cisticercos incubados con A) antiseros anti-HLA no absorbidos y B) antiseros anti-HLA absorbidos con plaquetas, después de bloquear los determinantes antigénicos de IgG humana de la superficie con los fragmentos Fab, y revelados con los anticuerpos anti-IgG fluoresceinados.

TABLA V
FIJACION DE COMPLEMENTO EN LA SUPERFICIE DE LOS CISTICERCOS

CISTICERCO	LOCALIZACION	INCUBADO CON:		
		anti-C3b F*	C' + anti-C3b F*	C' In # + anti-C3b F*
2219	Parénquima (SNC)	0.0, 0.0, 0.0 X= 0.0	2.0, 3.0, 4.0 X= 3.0	0.5, 0.25, 0.0 X= 0.25
2504+	Parénquima (SNC)	X= 1.0	X= 3.5	X= 1.0
2955	Subretiniano	0.25, 0.25, 0.5 X= 0.3	2.5, 2.0, 2.5 X= 2.3	0.5, 1.0, 0.5 X= 0.6
2947i	Intraocular	0.0, 0.0, 0.0 X= 0.0	3.5, 3.0, 4.0 X= 3.5	3.0, 3.0, 3.0 X= 3.0
2534	Cisternas	2.0, 2.0, 0.5 X= 1.5	3.5, 3.5, 3.5 X= 3.5	0.0, 0.25, 1.0 X= 0.4
2648r	IV ventrículo (racemoso)	3.0, 3.0, 4.0 X= 3.3	1.0, 2.0, 0.5 X= 1.2	2.0, 1.0, 3.0 X= 2.0
2648c	IV ventrículo (celuloso)	2.0, 3.0, 3.5 X= 2.8	4.0, 4.0, 4.0 X= 4.0	2.5, 3.0, 3.0 X= 2.8
2812	Intraocular	1.5, 1.5, 3.0 X= 2.0	2.5, 2.0, 3.0 X= 2.5	0.5, 0.5, 1.5 X= 0.8
2708	Subcutáneo	3.5, 2.5, 3.0 X= 3.0	3.5, 3.0, 3.0 X= 3.2	3.0, 3.0, 3.0 X= 3.0
2947m	Muscular	3.0, 3.0, 3.5 X= 3.2	2.5, 2.0, 3.5 X= 2.6	3.0, 3.0, 3.0 X= 3.0

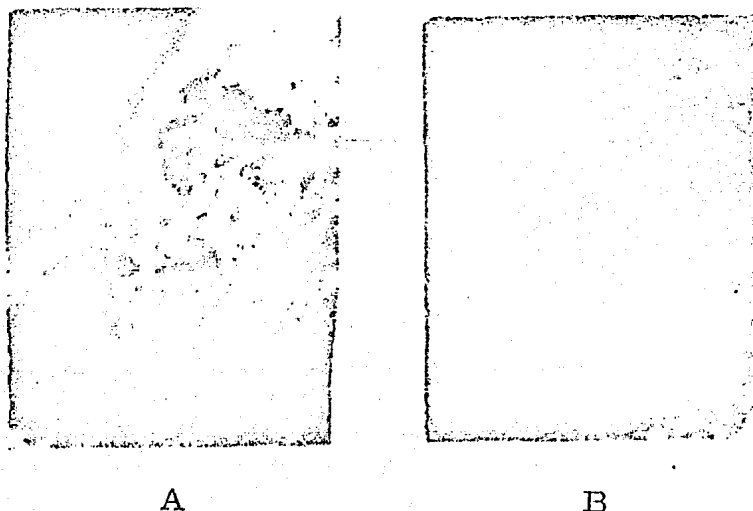
* Fluoresceinados; # Suero inactivado a 56°C durante 1 h; + los datos de este cisticerco no se almacenaron, solo se almacenó la media.

FIGURA 9



Como puede observarse en la figura 9, no existe diferencia entre los dos tipos de incubación; esto fue lo que sucedió en la mayor parte de los casos; una excepción fue la que se muestra en la figura 10, en donde puede apreciarse la diferencia en fluorescencia entre el cisticerco incubado con el suero sin absorber y aquel incubado con el suero absorbido.

FIGURA 10



En la tabla VI se muestran las calificaciones de tres observaciones y la media de los experimentos de bloqueo con los fragmentos Fab, las incubaciones con los sueros anti-HLA no absorbidos y absorbidos revelados con anti-IgG fluoresceinados.

TABLA VI
PRESENCIA DE ANTIGENOS HLA EN LOS CISTICERCOS

CISTICERCO	ANTIGENO PROBADO	INCUBADO CON:					
		Fab-anti- IgG		Fab + anti-HLA na*		Fab + anti-HLA a [†]	
		Datos	X	Datos	X	Datos	X
2955	B 15(35)	0.5, 0.5, 0.5	0.5	0.5, 0.5, 1.0	0.6	1.0, 0.5, 1.0	0.8
	Bw4	0.5, 0.5, 0.5	0.5	4.0, 3.0, 1.0	2.6	3.0, 2.0, 1.5	2.2
2219	B7	0.0, 0.25, 0.0	0.1	1.5, 2.0, 1.5	2.3	1.5, 1.0, 1.0	1.0
	B35	0.0, 0.25, 0.0	0.1	2.0, 1.0, 1.5	1.5	2.5, 1.0, 1.0	1.5
2534	A9	0.0, 0.0, 0.0	0.0	0.5, 1.0, 0.5	0.6	1.0, 0.0, 0.5	0.5
	B7	0.0, 0.0, 0.0	0.0	1.0, 0.5, 0.5	0.6	0.0, 0.0, 0.0	0.0
2504	A2	0.0, 0.5, 0.5	0.3	1.0, 1.5, 1.0	1.2	0.5, 1.0, 0.5	0.6
	A25	1.0, 1.0, 0.5	0.8	0.5, 0.5, 0.5	0.5	— & —	—
	Bw4	1.0, 1.0, 0.5	0.8	0.0, 0.0, 0.0	0.0	— & —	—
	Cw1	0.0, 0.0, 0.5	0.2	0.5, 0.5, 1.0	0.6	0.5, 0.5, 1.0	0.6
	DR8	1.0, 1.0, 0.5	0.8	0.5, 0.0, 0.5	0.3	— & —	—
2648r	A2	0.0, 0.0, 0.0	0.0	2.0, 1.0, 1.0	1.3	3.0, 2.0, 2.0	2.3
	A24	1.0, 0.5, 1.0	0.8	3.5, 2.5, 2.0	2.6	3.5, 1.5, 2.0	2.3
	B18	0.0, 0.0, 0.0	0.0	0.0, 0.0, 0.5	0.2	0.0, 0.0, 0.0	0.0
2648c	A2	0.0, 0.25, 0.0	0.1	3.0, 2.0, 3.5	2.8	2.5, 2.0, 3.5	2.6
	A24	0.0, 0.25, 0.0	0.1	3.5, 2.0, 3.5	3.0	2.0, 2.0, 3.0	2.3
	B18	0.0, 0.25, 0.0	0.1	2.0, 1.5, 2.0	1.8	1.5, 1.0, 1.5	1.3
	Bw4	0.0, 0.25, 0.0	0.1	3.0, 2.0, 2.5	2.5	2.5, 2.0, 3.0	2.5

* na: no absorbido con plaquetas; † a: absorbido con plaquetas ; &: no probados

Puede notarse que, en general, no existe diferencia entre las calificaciones de los sueros normales y los sueros absorbidos con plaquetas. Existen algunos en los cuales no se encontró diferencia entre el control negativo (bloqueo con I'ab) y el suero no absorbido, únicos que son claramente negativos.

DISCUSION

La presencia de dterminantes antigénicos reconocibles por anticuerpos anti-IgG humana en la superficie de 11 de 12 cisticercos examinados puede deberse a tres razones diferentes (no excluyentes):

- 1) A la presencia de anticuerpos anti-cisticerco del paciente presentes en la superficie del cisticerco debido a la reacción antígeno-anticuerpo.
- 2) A la presencia de IgG humana unida a la superficie por medio de receptores parasitarios para el fragmento Fc de las inmunoglobulinas.
- 3) A identidad antigénica entre una proteína del parásito y la IgG humana (existe evidencia indirecta de esto para cisticercosis porcina,).

Debido a los resultados obtenidos en los experimentos de fijación de C nos inclinamos a pensar que los determinantes de IgG detectados en la mayoría de los casos son anticuerpos anti-cisticerco, no bloqueadores ya que 6 de 10 cisticercos tienen C3b fijado in vivo a la superficie (tabla V) y los cuatro restantes tienen determinantes tanto de IgG como de IgM*, así como la capacidad de fijar C3b cuando se le adiciona el C activo (tabla VII); uno de ellos además tiene la capacidad de fijar C en ausencia de componentes de la vía clásica .

TABLA VII

CISTICER- CO.	X DE LA INCUBACION CON:				
	anti-IgG	anti-IgM*	anti-C3b	C+anti-C3b	Ci+anti-C3b
2219	2.2	3.8	0.0	3.0	0.25
2504	2.0	1.8	1.0	3.5	1.0
2955	0.5	3.5	0.3	2.3	0.6
2947	2.6	3.3	0.0	3.5	3.0

Estos cuatro cisticercos podrían estar evadiendo la fijación de C in vivo por tener alguna actividad anticomplementaria o por instalarse en sitios de difícil acceso para el C. Un hallazgo interesante en este sentido, fue el que se encontró con dos cisticercos que fueron extirpados del mismo individuo, el mismo día, pero de órganos diferentes . A pesar de que ambos tienen determinantes de IgG e IgM en la superficie, el cisticerco muscular tiene determinantes de C3b y el intraocular no (tabla VIII).

TABLA VIII

CISTICER- CO.	X DE LA INCUBACION CON:		
	anti-IgG	anti-IgM	anti-C3b
intraocular	2.6	3.3	0.0
muscular	2.6	2.8	3.2

En la mayor parte de los cisticercos la reacción con anticuerpos anti-IgG fluoresceinados se bloqueó con los fragmentos Fab (tabla V). Sin embargo en tres cisticercos esto no se logró a pesar de haberlo intentado en varias ocasiones y con diferentes cantidades de Fab (tabla IX).

TABLA IX

CISTICERCO	X DE LA INCUBACION CON :	
	anti-IgG	Fab + anti-IgG
2066	4.0	2.3
2708	3.5	2.0
2812	4.0	4.0

Los fragmentos Fab se produjeron del mismo lote que los anticuerpos fluoresceinados y no puede pensarse que sea el efecto de la fluoresceína ya que los demás cisticercos sí se bloquearon con los Fabs; la única diferencia importante, entonces entre los anticuerpos completos y los fragmentos Fab es el fragmento Fc en los primeros; es posible, entonces, que estos tres cisticercos tengan receptores para el fragmento Fc capaces de reconocer a los anticuerpos fluoresceinados por esta región, o bien, que tengan propiedades de membrana particularmente adhesivas.

Los resultados de los experimentos para detectar determinantes de HLA en los cisticercos demostraron que algunos antígenos de histocompatibilidad no están presentes (tabla X). Sin embargo, en todos los cisticercos hubo algún antígeno que fue reconocido por el antisuero anti-HLA (tabla VI). No obstante, no se pudo demostrar la especificidad de esta reacción ya que la preabsorción de los sueros con plaquetas humanas no impidió su pegado a la superficie del parásito (salvo en un caso: cisticerco 2504, antígeno A2, tabla VI). La especificidad debe ser demostrada por dilución de ambos sueros antes de rechazar la hipótesis de enmascaramiento con antígenos de histocompatibilidad.

TABLA X

CISTICERCO	ANTIGENO PROBADO	INCUBADO CON (X):	
		Fab+ anti IgG	Fab+ anti-HLA + anti-IgG
2955	B15	0.5	0.6
2504	A25	0.8	0.5
2504	Bw4	0.8	0.0
2504	DR8	0.8	0.3
2648r	B18	0.0	0.2

Originalmente, la presencia de antígenos H-2 en Schistosoma mansoni se postuló como mecanismo de evasión debido a la correlación entre la presencia de estos antígenos y la disminución en la capacidad de fijar anticuerpos in vitro (54). En contraposición a lo anterior, se puede concebir que los antígenos de histocompatibilidad en la superficie del parásito podrían propiciar la proliferación de linfocitos T citotóxicos (LTCs) que atacarían al parásito por medio de un mecanismo análogo al rechazo de tumores si es que estas células pueden reconocer antígenos parasitarios además de los antígenos de histocompatibilidad. No obstante se informó que si bien los LTCs se adhieren a la superficie de Schistosoma mansoni cubierta de antígenos H-2, no producen daño (55). Por todo lo anterior, resulta evidente que aun cuando se demuestre la presencia de antígenos HLA en la superficie de los cisticercos, su papel en la relación huésped-parásito debe analizarse mediante experimentos diseñados para ver su efecto in vivo, o bien in vitro utilizando cisticercos cubiertos con los antígenos de histocompatibilidad y linfocitos comprometidos de pacientes con cisticercosis.

La inmunofluorescencia es un método útil cuando la localización de los antígenos buscados es importante, como en el caso del presente trabajo. Sin embargo, presenta problemas de cuantificación muy importantes. En este trabajo se intentó cuantificar mediante experiencias de doble ciego de tres observadores, y, como pudo observarse, hubo ocasiones en que había grandes variaciones entre los observadores de una misma laminilla, a pesar de que, por lo general, las diferencias detectadas por un observador entre dos experimentos, fueron paralelas a las de otro..

A pesar de las limitaciones del método, los resultados mostrados en el presente trabajo nos condujeron a concluir que en la mayor parte de los casos, los elementos del sistema inmunológico (IgG, IgM y C3b) estuvieron accesibles in vivo a la superficie de los cisticercos, por lo que pensamos que, salvo excepciones, los cisticercos no están evadiendo la respuesta inmunológica sino que están resistiendo a ella. Probablemente, la superficie de estos parásitos tiene propiedades que la hacen resistente al ataque inmunológico, lo que podría probarse con experimentos de daño in vitro.

Desde un punto de vista evolutivo, una relación huésped-parásito tendería a desaparecer si la presión selectiva ejercida mutuamente no puede ser soportada por alguno de los organismos. Indudablemente la respuesta inmunológica del huésped debe ser una presión selectiva importante sobre el parásito de tal modo que si éste es eliminado con buena eficiencia, la relación no se mantiene. Así mismo, si el parásito, o la relación huésped-parásito, causa con mucha frecuencia la muerte del huésped, a nivel de población, la relación es inestable y tiende a desaparecer. Por ende, las parasitosis que conocemos son relaciones que han salvado, por lo menos en parte, las presiones selectivas que ambas partes ejercen entre sí, y, en buena parte, se debe a que los parásitos han desarrollado mecanismos de evasión o resistencia a la respuesta inmunológica, que, en términos de población, producen daño tolerable por el huésped.

Es de suponerse que un parásito que infecta a varias especies tiene mecanismos de evasión o resistencia que afectan a genes del huésped presentes en toda la escala filogenética. Sin embargo, normalmente los parásitos no son igualmente infectivos en las distintas especies (o, incluso, en distintas cepas de la misma especie) (68); resulta claro, entonces, que existen diferentes genes de resistencia o susceptibilidad a los parásitos en las diferentes especies de huésped y que sólo algunos de ellos son susceptibles a la interferencia parasitaria.

REFERENCIAS

- 1.- Cheng, Thomas C. "General parasitology" Academic Press, New York, 1973 p. 3.
- 2.- Warren, K. Diseases due to helminths. En: "Principles and practice of infectious diseases" Mandell, G.L., Douglas, R.G. and Bemmett, J.E.(eds) Wiley Med. Publ., 1979, p 2155
- 3.- Schenone, H. Epidemiology of human cysticercosis in Latin America. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives". Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. (eds) Academic Press, New York, 1982, p. 25.
- 4.- Mahajan, R. Geographical distribution of human cysticercosis. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives" Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., and Beltrán, F. (eds). Academic Press, New York, 1982, p. 39.
- 5.- Perez-Tamayo, R y Flores, F. Datos generales de 2202 autopsias. Prens. Med. Mex. 24:117, 1959.
- 6.- Rabiela, M.T. y col. Consideraciones anatomopatológicas sobre cisticercosis cerebral como causa de muerte. Patología 17: 119, 1979
- 7.- Flisser, A. 'The immunology of human cysticercosis' En: "Molecules, cells and parasites in Immunology" Larralde, C. y col. (eds) Academic Press, New York, 1980, p. 125.
- 8.- Zenteno-Alanis, G. A classification of human cysticercosis. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives" Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. (eds) Academic Press New York, 1982, p. 107
- 9.- Gemmell, M. and R. Lawson. Ovine cysticercosis: an epidemiological model for the cysticercosis I. - The free living egg phase. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives" Flisser, A., Willms, K., Laclette, J.P., Larralde, C., Ridaura, C., and Beltrán, F. (eds) Academic Press, New York, 1982, p. 99
- 10.- Mitchel, G.F. Inhibition of induction and expression of host protective immune responses in infected host: parasite-protective (proparasitic) responses and immunosuppression. Afr. J. Clin. Exp. Immunol. 2: 295, 1981.
- 11.- Bloom, B.R. Games parasites play: how parasites evade immune surveillance. Nature 279:21, 1979.
- 12.- McLaren, D.J. y col. Acquisition of host antigens by young Schistosoma mansoni in mice: correlation with failure to bind antibody in vitro. Parasitology 70: 67, 1975.
- 13.- Williams, J. y col. Evasion of immunity by cestodes En: "The host invader interplay" Vanden, H. (ed) Bossche Janssen Research Foundation. Elsevier/ North Holland/ Biomedical Press, Amsterdam, 1980.
- 14.- Ben-Ismael, R. y col. Biosynthesis of A, H and Lewis blood group determinants in Fasciola hepatica. J. Parasitol. 68: 402, 1982.
- 15.- Viens, P. y col. The persistence of Trypanosoma (Herpetosoma) musculi in the kidneys of immune mice. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 66: 669, 1972.

16. - Hirscht, J.G. y col. Interactions in vitro between Toxoplasma gondii and mouse cells. En: "Parasites in the immunized host: mechanisms of survival" Ciba Foundation Symposium 25 (ed) Elsevier Excerpta Medica, New York, 1974 p.205.
17. - Holmes, G.S. and P.A.D'Alesandro. Trypanostatic activity of rat IgG purified from the surface of Trypanosoma lewisi. J.Parasitol. 68:765, 1982.
18. - Lachman, P.J. Immunological tolerance and unresponsiveness En: "The immune system: a course on the molecular and cellular basis of immunity" Hobart, M.J. and Ian McConnell (eds) Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1975, p.152.
19. - Wilson, R.J.M. Soluble antigens as blocking antigens. En: "Parasites in the immunized host: mechanisms of survival" Ciba Foundation Symposium 25 (eds) Elsevier Excerpta Medica, New York, 1974, p.185
20. - Heath, D.D. and J.D.Smyth. In vitro cultivation of Echinococcus granulosus, Taenia hydatigena, T. ovis, T. pisiformis and T. serialis from oncosphere to cystic larva. Parasitology 61: 329, 1970.
21. - Espinoza, B. y col. Immunodiagnosis of human cysticercosis: ELISA and Immunoelectrophoresis. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives" Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. (eds) Academic Press, New York, 1982, p.163.
22. - Flisser, A. Discussion. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives" Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. (eds) Academic Press, New York, 1982, p. 611
23. - Guerra, G. y col. Biochemical and immunological characterization of antigen B purified from cysticerci of Taenia solium. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives" Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. (eds) Academic Press, New York, 1982, p. 437.
24. - Flisser, A. y col. Human cysticercosis: antigens, antibodies and non-responders, Clin. Exp. Immunol. 39: 27, 1980.
25. - Plancarte, A. y col. Fibronectinlike properties of antigen B from cysticerci of Taenia solium. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives" Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán, F. (eds) Academic Press, New York, 1982, p.453.
26. - Gorer, P.A. The detection of antigenic differences in mouse erythrocytes by the employment of immune sera. Br. J. Exp. Pathol. 17: 42, 1936.
27. - Snell, P. J. Genetics. 49: 87, 1948.
28. - Murphy, D.B. Genetic fine structure of the H-2 gene complex. En: "The role of the Major Histocompatibility Complex in Immunobiology" Dorf, M.E. (ed) Garland STPM Press, New York, 1981 p. 1.
29. - Dausset, J. Leucoagglutinins and blood transfusion. Vox Sang 4:190, 1954.
30. - Parham, P. and Strominger, J. Histocompatibility antigens: structure and function. Chapman and Hall. Serie B 29: 235, 1982.
31. - Van Rood, J.J. y col. Genetics and Biology of the HLA system. En: "The role of the Major Histocompatibility Complex in Immunobiology" Dorf, M.E. (ed) Garland STPM Press, New York, 1981 p. 59.

- 32.- Snell, G. y col. The HLA complex: serology and genetics. En: "Histocompatibility" Academic Press, New York, 1976, p. 182.
- 33.- Terasaki, P.I. Eight international Workshop on Histocompatibility Testing. UCLA Tissue Typing Lab. Los Angeles, Calif, 1980.
- 34.- Heather, M.D. and Kissmeyer-Nielsen. HLA and transplantation. Elsevier/North Holland/ Biomedical Press, New York, 1979, p. 163.
- 35.- Carpenter, Ch.B. HLA and other genetic markers in disputed paternity. En: "Clinical histocompatibility testing" Grune and Stratton. Londo 1:233, 1977.
- 36.- Mourant, A.E. Biochemical polymorphism in Anthropology. En: "Histocompatibility testing 1972" Munksgaard, Copenhagen, 1972, p. 31
- 37.- Fisher, R.A. The genetical theory of natural selection. Oxford University Press, London, 1930.
- 38.- Ploegh, H. y col. Major Histocompatibility Antigens: the human (HLA-A, -B, -C) and murine (H-2K, H-2D) class I molecules. Cell 24: 287, 1981.
- 39.- Glassy, M.C. A chemical and biological profile of HLA DR (Ia-like) antigens. TIBS 7: 286, 1982.
- 40.- Zinkernagel, R. Thymus and lymphopoietic cells. Their role in T cell maturation. Immun. Rev. 42: 424, 1978.
- 41.- Shearer, G.M. Role of the murine Major Histocompatibility Complex in the specificity of in vitro T cell mediated lympholysis against chemically modified autologous lymphocytes. Transpl. Rev. 29: 222, 1976.
- 42.- Celis, E. y col. Cyclical changes in susceptibility of a myeloma tumor (LPC-1) to immune destruction. I. - Changes in reactivity with cytotoxic T lymphocytes and with anti-H-2^d antisera. J. Immunol. 122: 954, 1979.
- 43.- Shaw, S. y col. HLA restriction of human Influenza virus-immune cytotoxic T cells. En: "Clinical Histocompatibility Testing" 4: Carpenter, C.B. (ed) Grune and Stratton, New York, 1980, p.159.
- 44.- Mervello, D. and M. Eddidin. The biological function of the Major Histocompatibility Complex: Hypotheses. En: "Contemporary topics in Immunobiology 9: Self/Non self discrimination" Marchalonis, J.J. and N. Cohen (eds).
- 45.- Dausset, J. and Contu, L. Is the MHC a general self-recognition system playing a major unifying role in an organism? Hum. Immunol. 1:5, 1980.
- 46.- Lilly, F. y col. Genetic basis of susceptibility to viral leukaemogenesis. Lancet 2: 1207, 1964.
- 47.- Svejgaard, A. y col. HLA and disease En: "Immunology 80. Progress in Immunology" Fougereau, M. and Dausset, J. (eds) Academic Press, London, p. 532, 1980.
- 48.- Kravitz, K. y col. Genetic linkage between hereditary hemochromatosis and HLA. Am. J. Hum. Genet. 31: 601, 1979.
- 49.- Seager, K. y col. Evidence for specific B27 associated cell surface marker on lymphocytes of patients with ankylosing spondylitis. Nature 277:63, 1979.
- 50.- Jirsch, D.W. Immunological engineering. HLA complex-associations with disease. University Park Press, Baltimore, 1978, p. 270.
- 51.- Khan, M.A. y col. Clinical and HLA studies in multiple case families with rheumatoid arthritis. Tissue Antigens 18: 136, 1981.
- 52.- Ungar, E. y col. HLA-DR patterns in pernicious anaemia. Brit. Med. J. 282: 768, 1981.
- 53.- Druery, C. y col. Search for Klebsiella cell wall components cross-reactive with lymphocytes of B27+ AS+ individuals. Hum. Immunol. 1:151, 1980.

- 54.- Sher, A. y col. Acquisition of murine MHC gene products by schistosomula of Schistosoma mansoni. J. Exp. Med. 148: 46, 1978.
- 55.- Butterwoth, A. y col. Cytolytic T lymphocytes recognize alloantigens on schistosomula of Schistosoma mansoni, but fail to induce damage. J. Immunol. 122: 1314, 1979.
- 56.- Dick, H. M. HLA and disease Brit. Med. Bull. 34:271
- 57.- Wasson, D. L. y col. MHC linked genetic control of the immune response to parasites: Trichinella spiralis in the mouse. En: "Genetic control of natural resistance to infection and malignancy" Academic Press, 1980, p. 75
- 58.- Vickery, A. C. y col. Immunoregulation and altered resistance to infection in different mouse strains infected with Nippostrongylus brasiliensis En: "Genetic control of natural resistance to infection and malignancy" Academic Press, 1980, p.83.
- 59.- Greenblatt, H. C. y col. Genetic control of resistance to Trypanosoma rhodesiense in mice. En : "Genetic control of natural resistance to infection and malignancy" Academic Press, 1980, p.89.
- 60.- Mitchell, G. F. Genetic variation in resistance of mice to Taenia taeniaeformis: analysis of host-protective immunity and immune evasion. En: "Cysticercosis: present stage of knowledge and perspectives" Flisser, A., Willms, K., Lacleste, J.P., Larralde, C., Ridaura, C. and Beltrán (eds) Academic Press, 1982, p. 575.
- 61.- Piazza y col. HLA variation in four Sardinian villages under differential selective pressure by malaria. En: "Histocompatibility testing 1972", Dausset, J. and Colombani, J. (eds) Munksgaard, Copenhagen, 1972, p.73.
- 62.- Duquesnoy, R. J. y col. Association of presumed ocular histoplasmosis with HLA-B27 and DRw2. En: "Clinical histocompatibility testing" Carpenter, C. B. (ed) 4: 191, Grune and Stratton, 1980.
- 63.- Gorodezky, C. y col. Distribución de antígenos HLA en la cisticercosis cerebral. En: "Segundo taller de trabajo y Congreso de la Sociedad Latinoamericana de Histocompatibilidad" Instituto Venezolano de Investigaciones científicas, Venezuela, 1982, p. 21.
- 64.- Terasaki, P. I. y col. "Histocompatibility testing" Munksgaard, Copenhagen, 1970.
- 65.- Porter, R. R. The hydrolysis of rabbit gamma-globulin and antibodies with crystalline papain. Biochem, J. 73: 119, 1959.
- 66.- Rinderknecht, H. Ultrarapid fluorescent labelling of proteins. Nature 193: 167, 1962.
- 67.- Lachman, P. J. The immunochemistry of Complement. En: "The immune system. A course on the molecular and cellular basis of immunity" Hobbart, M. J. and McConnell (eds) Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1975.
- 68.- Cheng, T. C. "General Parasitology" Academic Press, New York, 1973, p.494.