



11261
13
ZE

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA

ESTUDIO INMUNOGENETICO EN PAREJAS
MEXICANAS CON ABORTO ESPONTANEO
RECURRENTE (AER).

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOMEDICAS
(INMUNOLOGIA)

P R E S E N T A :
BEATRIZ SILVA RAMIREZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. JULIO GRANADOS ARRIOLA

MEXICO, D. F.

1995



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.

DEDICADA :

A MI AMADO ESPOSO:

I.Q. RAFAEL GARCIA MURIZ

Y

A NUESTRO HIJO RAFAEL QUE PRONTO NACERA

A MI MADRE

A MIS HERMANAS

Y

A MI SOBRINO HUGO DANIEL

AGRADEZCO:

DR. JULIO GRANADOS ARRIOLA POR SER MI MAESTRO

DRA. SUSANA KOFMAN-ALFARO POR EL APOYO RECIBIDO

**DRS. VICENTE DIAZ
LUIS LLORENTE
RICARDO GARCIA CAVAZOS**

POR SER PARTE DEL DISTINGUIDO JURADO

**A TODOS LOS PACIENTES CON LA PLENA ESPERANZA DE ALGUN DIA
ENCONTRAR LA SOLUCION A SU PROBLEMA.**

AL HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, SSA.

INDICE GENERAL.

I. RESUMEN.

II. GENERALIDADES.

1. SISTEMA PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

- A). GENES CLASE I.**
- B). GENES CLASE II.**
- C). HLA Y ENFERMEDAD.**

2. RELACION HLA Y ABORTO ESPONTANEO RECURRENTE (AER).

- A). ANTECEDENTES.**
- B). HIPOTESIS INMUNOLOGICA EN LA RELACION HLA Y ABORTO.**
 - a). ANTICUERPO BLOQUEANTE.**
 - b). ANTIGENOS TLX (CD48).**
 - c). REGULACION DE MOLECULAS DEL SPH EN TROFOBLASTO.**
 - d). CELULAS NK EN PLACENTA.**
 - e). PRODUCCION DE CITOCINAS POR LA UNIDAD FETO-PLACENTA.**

C). HIPOTESIS GENETICA EN LA RELACION HLA Y ABORTO.

III. HIPOTESIS.

IV. OBJETIVOS.

V. MATERIAL Y METODO.

- A). PACIENTES.**
- B). CONTROLES.**
- C). TIPIFICACION DE ANTIGENOS CLASE I Y II (FUNDAMENTO).**
 - a). EQUIPO.**
 - b). MATERIAL.**
 - c). REACTIVOS.**
 - d). MATERIAL BIOLÓGICO.**
 - e). PROCEDIMIENTO.**

D). ANALISIS ESTADISTICO.

VI. RESULTADOS.

VII. DISCUSION.

VIII. CONCLUSION.

IX. BIBLIOGRAFIA.

X. TABLAS Y FIGURAS.

I. RESUMEN

Algunos reportes sugieren que mujeres con AER comparten con su pareja haplotipos del Sistema Principal de Histocompatibilidad (SPH), en una proporción mayor que las parejas fértiles. Se estudiaron 57 parejas con AER del primer trimestre con resultados anatómicos, cromosómicos y hormonales normales. se agruparon por historia clínica como Abortadoras Primarias con dos ó más abortos (Grupo I) o Secundarias con uno ó más hijos y subsecuentes abortos (Grupo II) y un grupo control de parejas fértiles con dos ó más hijos (Grupo III).

En todas las parejas se estudiaron los antígenos del SPH por microlinfocitotoxicidad usando un panel de 200 antisueros que reconocen todas las especificidades conocidas de los antígenos clase I y clase II.

El análisis de los resultados demostró que el Grupo I compartió antígenos de los locus HLA-A, -B y -DR más frecuentemente que los otros grupo con una $P < 0.001$. sin embargo compartir alelos de los locus HLA-B y -DR parecerían tener mayor trascendencia para el proceso reproductivo.

Las parejas del Grupo II por ser un número reducido no aportaron resultados representativos.

Estos datos sugieren que los genes del SPH, particularmente HLA-B y -DR en el Grupo I, influyen directamente en el proceso reproductivo o como marcadores de secuencias de DNA vecinas a genes recesivos deletéreos que dan como resultado el aborto.

II. GENERALIDADES.

1. EL SISTEMA PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD.

El sistema principal de histocompatibilidad (SPH), está constituido por una serie de genes ligados que se encuentran localizados en el brazo corto del cromosoma seis humano (6p21.3) (Fig.1). Este sistema tiene una extensión de 4.200 kb y se han identificado al menos 80 genes en esta región. (1-3).

Primordialmente son tres tipos de moléculas las codificadas por genes del SPH, las de clase I y clase II pertenecen al sistema HLA (antígenos leucocitarios humanos) que son los más polimórficos del ser humano y los de clase III corresponden a proteínas de complemento (3).

Las moléculas clase I se encuentran hacia la región telomérica del SPH, que por lo menos tienen 19 genes relacionados entre sí (4) e incluyen los loci de moléculas clase I clásicas HLA-A, -B, -C y las no clásicas HLA-E, -F, -G. Hacia la porción centromérica se encuentra la región clase II, que puede dividirse en 4 subregiones (DP, DNA (antes DZ)/DO, DQ y DR), cada una por lo menos con un par de genes alfa y beta (5). Dentro de la región clase II se incluyen los determinantes HLA-DW, los cuales se manifiestan por cultivo

mixto de linfocitos MLC (6). Entre estas dos regiones se localizan los genes que codifican para las moléculas clase III, que incluyen los componentes de complemento C2, factor B (fB) y C4A y C4B, así como los genes estructurales de las 21-hidroxilasa A y B (21-OHA y 21-OHB).

Dentro del SPH se incluyen otros genes como: el de glicoxilasa I, que es el más próximo al centromero; los genes del factor de necrosis tumoral alfa y beta (TNF- α y TNF- β) que están entre el locus HLA-B y la región clase III y el gen de una proteína con estructura periódica no común llamada RD, que se encuentra entre el gen del factor B y el C4A.

Recientemente se han encontrado otros cinco genes asociados al locus HLA-B, llamados "transcritos asociados a B", que se designan como: BAT-1, -2, -3, -4 y -5, así como también un gen llamado B-144 que es análogo a un gen con igual nombre en el ratón (7). En 1989 se encontraron dos loci de la proteína de "choque térmico", Hsp 70-1 y Hsp 70-2, situados entre los genes de clase III y el factor de necrosis tumoral alfa (3). Dentro de la región clase II se han descrito recientemente varios genes que participan en el procesamiento y transporte de péptidos, denominados: LAMP 7, y TAP 2 (8).

Los genes del SPH se heredan de manera mendeliana

codominante. Las moléculas clase I clásicas se expresan en la membrana de todas las células nucleadas del cuerpo, excepto en neuronas y son difíciles de detectar en eritrocitos. Las moléculas no-clásicas tienen distribución específica: HLA-G se expresa preferentemente durante la vida embrionaria en subpoblaciones de trofoblasto. HLA-E se expresa en eosinófilos y en hígado fetal, HLA-F sólo ha sido detectada en hígado fetal (4).

Las moléculas clase II se expresan sólo en ciertas células : macrófagos, linfocitos B, células endoteliales, células dendríticas y células de Langerhans. En linfocitos T activados se expresan por inducción con mitógenos ó estímulos antígeno-específicos (9).

La frecuencia de recombinación génica dentro del SPH es muy baja (menos del 2%). El entrecruzamiento entre cromosomas homólogos que incluye los genes HLA-A y -B ó HLA-B y -DR ocurre con una frecuencia menor del 1% por esta razón el complejo génico puede considerarse como una sola unidad (10).

Los alelos de los loci del SPH de un cromosoma en particular constituyen un haplotipo (el genotipo de un individuo está dado por dos haplotipos, uno de origen materno y otro de origen paterno). Una combinación dada de alelos de

los loci fB, C2, C4A y C4B forman un complotipo o haplotipo de genes de complemento (11).

A). GENES CLASE I.

Los antígenos de clase I son mediadores de la eliminación alogénica y de la restricción de linfocitos T efectoros (12). Se componen de un par de cadenas polipéptidicas unidas no covalentemente; una cadena pesada alfa, que es glicoproteica, transmembranal de 45 kd y una cadena ligera beta, también glicoproteica de 12 kd. La cadena alfa es polimórfica y esta codificada por el locus HLA-A, -B, ó -C y la cadena beta, monomórfica, es la beta-2-microglobulina, codificada por un gen en el cromosoma 15 humano.

La estructura de los antígenos de clase I del SPH, se dedujo inicialmente a partir de la determinación de la secuencia de aminoácidos de material purificado de una línea celular humana linfoblastoide (13). Estas moléculas tienen dominios extracelulares, una región transmembranal y una cola citoplásmica corta. Además, se obtuvo la estructura tridimensional de moléculas clase I por medio de cristalografía de rayos X (14). La cadena pesada alfa consta de tres dominios externos ($\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$). Los dominios 1 y 2 son los más distales a la membrana celular y son los que

contienen los residuos polimórficos. Estos dos dominios conforman el sitio de unión a un antígeno (15), que es de esta forma presentado por la molécula del HLA al receptor del linfocito T.

La mayor diversidad de aminoácidos de los antígenos de clase I se hallan en diferentes sitios en los dominios $\alpha 1$ y $\alpha 2$, lo que ha sido confirmado mediante experimentos de transfección génica y por reconocimiento con aloanticuerpos (12).

El dominio $\alpha 3$ está muy conservado. El polimorfismo de estas moléculas es mayor que el de las regiones variables de las inmunoglobulinas y la mayoría de las posiciones polimórficas están en los residuos 1 al 94.

Las moléculas clase I no-clásicas HLA-E, -F y -G difieren de las moléculas clásicas en que su cadena alfa tiene un polimorfismo limitado aunque el análisis tridimensional de la estructura de estas moléculas aún no se ha realizado. La cadena pesada de HLA-G tiene un peso de 39 kd debido a una mutación en el dominio citoplásmico. la función de estas moléculas se desconoce, pero se ha propuesto que debido a su limitada expresión tengan funciones específicas (4).

En el humano se han detectado por serología alrededor de

23 alelos del locus HLA-A. 49 de HLA-B y se estima que al encontrarse más subtipos de cada alelo por otras metodologías, aumenten a 50 para HLA-A y a más de 100 para HLA-B (16).

B). GENES CLASE II.

Los antígenos de clase II son determinantes primarios en la generación de respuestas proliferativas de linfocitos T en cultivo mixto de linfocitos (13) y presentan antígenos al receptor de linfocitos T. Estas moléculas se encontraron como impurezas en preparaciones de antígenos de clase I. Están constituidos de dos cadenas glicoproteicas, unidas no covalentemente, una cadena pesada alfa monomérica, de 33 kd y una cadena ligera beta polimérica, de 28 kd (8), ambas codificadas por loci del HLA. Las moléculas de clase II tienen cuatro dominios externos: $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ y $\beta 2$, análogos a los dominios $\alpha 1$, $\alpha 2$ y a la beta-2-microglobulina de la molécula de clase I. Los dominios $\alpha 2$ y $\beta 2$ son del tipo de los dominios de las inmunoglobulinas, muy conservados y los dominios $\alpha 1$ y $\beta 1$ son poliméricos. Recientemente se obtuvo la estructura tridimensional por cristalografía de rayos X de las moléculas clase II (17), la cual es similar a la estructura de las moléculas de clase I.

La molécula clase II tiene asociada a las cadenas α y β

una glicoproteína transmembranal de 31 kd, conocida como gamma ó cadena invariante (Ii). Esta facilita el transporte del complejo por el retículo endoplásmico previniendo uniones inespecíficas disociándose más tardíamente por un proceso proteolítico (18).

De las cuatro subregiones de los genes de las moléculas de clase II, la subregión DP consta de dos pares de loci α y β , de los cuales DP α 2 y DP β 2 parecen ser dos pseudogenes. La subregión DNA/D α está constituida por los genes DNA α y D α β , pero como estos dos loci están separados por varios cientos de kilobases, quizá no se forme un dímero α/β (8). La subregión DQ tiene dos genes α y dos β : incluye dos genes DX (α y β) y un gen D α β entre los dos genes D α y DX. La subregión DR tiene cuatro genes β : β 1 codifica para las variantes de DR del DR1 al DR18, el β 2 es pseudogen, el β 3 codifica para el determinante DRw52 y el β 4 para el determinante DRw53, y un gen DR α monomórfico. No existen evidencias de que DNA y DQ se exprese como proteínas, aunque se han encontrado RNAs de ambos genes en células B. El polimorfismo de las moléculas de clase II se encuentra en las cadenas de los antígenos HLA-DP, -DQ y -DR. Los residuos polimórficos están en cuatro porciones del dominio β 1 de DQ y DR, así como en una sola porción en α 1 de DQ. El polimorfismo de la cadena DP es limitado. (13).

El polimorfismo alélico de los antígenos de clase I y II se reconoce fenotípicamente por serología y recientemente también por técnicas moleculares.

Las variantes de HLA-Dw se detectan por cultivo mixto de linfocitos. El polimorfismo genotípico se reconoce mediante secuenciación de nucleótidos y análisis de fragmentos de restricción (19).

C). HLA Y ENFERMEDAD .

Desde el descubrimiento de que las moléculas del HLA sirven como elementos de restricción para el reconocimiento de patógenos, se pensó que este sistema podría estar relacionado con la predisposición para desarrollar algunas enfermedades.

Los avances ocurridos en el conocimiento de la genética y la biología de las moléculas clase I, II y III han estimulado la investigación en el área de la asociación de enfermedades con alelos de estos genes, especialmente por la función que tienen en la regulación de la respuesta inmunitaria.

El estudio de la relación entre marcadores del SPH y algunas enfermedades presenta varios problemas: en primer lugar, los alelos que se encuentran asociados con algunas enfermedades también se encuentran presentes en la población

normal; en segundo lugar, se ha observado que en muchos casos un sólo alelo se asocia con más de una enfermedad; y por último, dentro de una misma enfermedad, ésta no se asocia en el 100% de los casos en un sólo alelo. Por lo anterior, se ha intentado determinar un mayor polimorfismo dentro de los alelos del HLA mediante el uso de la biología molecular; de esta manera, se han descrito subtipos de alelos que se encuentran asociados a algunas enfermedades. Aún más, se ha propuesto que no es un antígeno específico el que se asocia con un padecimiento, sino que un epítope que puede estar presente en varios alelos determinando la susceptibilidad para una enfermedad. Se ha encontrado que un aminoácido es el responsable de la susceptibilidad, tal como en la diabetes mellitus insulino dependiente que está asociado con la presencia de un aminoácido sin carga en la posición 57 de la cadena beta del HLA-DQ(20).

Por otro lado, es factible, que el gen de susceptibilidad para una enfermedad este causada por genes recesivos, como ocurre en los casos de deficiencia de C2 y de C4 o en la hiperplasia suprarrenal congénita debida a la deficiencia del gen para la enzima 21-hidroxilasa. De la misma manera se ha demostrado un gen dentro del SPH que confiere susceptibilidad al desarrollo de hemocromatosis idiopática. En

esta enfermedad, el poseer ambos haplotipos HLA en común con el caso índice, confiere mayor expresión bioquímica de sobrecarga de hierro y la aparición de los síntomas clínicos que caracterizan a la enfermedad (21). En enfermedades como la ataxia cerebelosa se han demostrado genes de susceptibilidad con forma de herencia dominante unidos al SPH.

La mayoría de las enfermedades estudiadas en relación con el SPH, muestran asociación pero no se ha demostrado ligamiento. Cabe resaltar el caso de la espondilitis anquilosante con el B27, asociación que tiene uno de los riesgos relativos más elevados (>100); en todas las poblaciones hasta hora estudiadas.

En cuanto las moléculas clase II es importante señalar que estas moléculas participan en los eventos de activación, tanto en condiciones normales como en fenómenos autoinmunes. Su importancia radica en que estas moléculas están implicados en los eventos de presentación antigénica, así como en la selección del repertorio de la célula T. A través de esos dos eventos, el polimorfismo del SPH controla aspectos tan importantes como la competencia inmune, la selección del repertorio de las células T y la activación periférica. Debido a la influencia que tienen las moléculas clase II en la respuesta inmune, es lógico asumir que muchas enfermedades que implican alteraciones

inmunológicas estén asociadas específicamente con ciertos alelos polimórficos de la región II del SPH.

2. RELACION HLA Y ABORTO ESPONTANEO RECURRENTE (AER).

A). ANTECEDENTES.

El aborto se define como la terminación del embarazo antes de la semana 20 de gestación y el aborto recurrente es la pérdida de dos o más productos en forma espontánea, representando una situación emocionalmente traumática para la pareja con deseos de tener un hijo y un problema de Salud Pública.

Se estima que sólo el 15% de los abortos espontáneos son reconocidos clínicamente durante el primer trimestre del embarazo. sin embargo las evidencias sugieren que 60 a 75% de todas las concepciones se pierden en etapas muy tempranas (22,23). Diferentes etiologías han sido propuestas incluyendo: desordenes anatómicos, citogenéticos, factores endócrinos, autoinmunes e infecciones (24). Sin embargo la causa de la mitad de todos los abortos recurrentes espontáneo aún se desconoce.

Desde hace varias décadas el embarazo fué reconocido como un trasplante semialogénico se han propuesto diferentes

mecanismos potenciales para explicar como la unidad feto-placenta es aceptada sin que la madre la rechaze inmunológicamente. Fenómenos como la no-inmunogenicidad fetal. La incapacidad materna para una respuesta inmune (25) y la tolerancia mediada por factores inmunomoduladores (26) han sido sugeridos, pero los mecanismos implicados aún no han sido demostrados.

Existen reportes en la literatura que sugieren que mecanismos aloinmunes pueden llevar a un embarazo satisfactorio. Gestaciones histoincompatibles (determinantes antigénicos paternos diferentes a los de la madre en el feto) tienen ventajas selectivas durante el embarazo. En cambio gestaciones histocompatibles (determinantes paternos y maternos iguales en el feto) están en desventaja selectiva y pueden llegar a ser abortados. Esto se ha sido confirmado en experimentos en animales y en observaciones clinicas en el humano (27,28).

En ratones se ha demostrado una mayor frecuencia de cigotos incompatibles implantados que cigotos compatibles para H-2 (SPH en el ratón) y también la disimilaridad materno-fetal esta relacionada con el tamaño de la placenta, ya que placentas pequeñas se correlacionan con compatibilidad materno-fetal (26).

Palm (29), ha comprobado que en ratas las parejas homocigotas SPH tienen una función reproductiva disminuida con eliminación selectiva de embriones homocigotos, infiriendo que la histoincompatibilidad materno-fetal estimula una respuesta inmune materna que actúa en la implantación y mantenimiento gestacional, influyendo en el grado de polimorfismo de esta región.

Los estudios iniciales en pacientes con AER sin causa aparente demostraron mayor frecuencia de antígenos HLA compartidos en la pareja abortadora con respecto a un grupo control. Este dato sugiere que fetos compatibles con su madre están en desventaja selectiva, al ser incapaces de estimular el sistema inmune materno para obtener una respuesta protectora (30,31).

Aunque algunos reportes no confirmen esta hipótesis la mayoría de estudios sobre el tema reportan un incremento de antígenos HLA en parejas con AER al compararse con un grupo control de parejas fértiles. Existen discrepancias entre los genes SPH o regiones asociadas con la pérdida fetal existiendo algunos autores que han encontrado una tendencia más frecuente de compartir antígenos de los loci HLA-B y -DR en parejas con AER. En otros estudios se comparten todos los loci HLA (40-44). Algunos investigadores han subdividido al grupo de abortadoras

en: primarias (cuyos embarazos han terminado en abortos), abortadoras secundarias (abortos subsecuentes y espontáneos después del nacimiento de un hijo) encontrándose una mayor tendencia de compartir alelos HLA en las abortadoras primarias (37-44). En otros trabajos se han reportado un alelo específico asociado a la pérdida fetal (45, 46). En parejas finlandesas con AER no se encontró aumento en la compatibilidad de antígenos HLA pero se reconocieron alelos cuya frecuencia es rara en esta población tanto para HLA como para otros genes dentro del SPH (47, 48).

Ober en 1983, estudió el efecto de antígenos SPH en los Hutteritas, grupo étnico que habita en la frontera entre USA y Canadá, en donde se practica la endogamia y se prohíbe la anti-concepción. En su primer trabajo reporta un discreto intervalo entre los nacimientos de los hijos de parejas que compartían más de un antígeno HLA (49). Posteriormente identificó que el compartir antígenos HLA-DR en las parejas tenía mayor efecto en los intervalos, haciéndose más prolongados y con pérdidas fetales muy tempranas. Otro dato interesante fué la existencia de diferencias significativas en el ratio de sexos, anomalías menores y talla baja en los descendientes de parejas compatibles en los alelos HLA-DR (39, 50, 51).

Estas discrepancias en los resultados de los diferentes trabajos podrían deberse a:

- 1). Número de antígenos usados en la tipificación de los diferentes locus HLA debido al número de antígenos presentes en cada población.
- 2). Número de parejas y criterio de selección del grupo control.
- 3). Criterios clínicos de selección y estratificación de parejas con AER.
- 4). Diferencias genéticas y socio-demográficas del grupo control y de las parejas con AER.

A pesar de las discrepancias, existe una tendencia marcada a relacionar los antígenos de los loci HLA y el AER.

Se han sugerido dos hipótesis principales para explicar una posible asociación entre los genes del SPH y la pérdida fetal: la hipótesis inmunológica y la genética.

B). HIPOTESIS INMUNOLOGICA EN LA RELACION HLA Y ABORTO.

Sugiere la presencia de una respuesta inmune protectora cuando la madre y el feto son diferentes en sus loci HLA, siendo

necesaria la disparidad materno-fetal para implantación y desarrollo fetal (34). El embrión, feto y placenta pueden ser el blanco de ataques del sistema inmune materno, debido a la presencia de determinantes antigénicos paternos. Se han propuesto factores inmunomoduladores en el mantenimiento de esta interacción materno-fetal y el desbalance de estos mecanismos llevaran a la pérdida fetal (26).

La importancia de una respuesta inmune en la implantación y desarrollo fué observada primeramente en modelos animales. En el ratón la cruce entre una hembra CBA(H-2K) con un macho DBA/2(H-2d) resulta en 42% de abortos ó reabsorciones, y la inmunización con linfocitos de ratones machos BALB/C(H-2d) a la hembra CBA(H-2K) previene el aborto (52, 53). Recientemente se ha reportado también que la inoculación de ciertas citocinas a las hembras pueden prevenirlas la pérdida fetal (54). Sin embargo, los mecanismos involucrados no son del todo conocidos pero probablemente se trate de una activación local efectora no específica.

a). ANTICUERPO BLOQUEANTE.

Para las parejas con AER y que comparten antígenos HLA se ha propuesto como causa del aborto la predisposición a la deficiencia de un factor materno bloqueante de la respuesta

inmune (55, 56). Este factor que bloquearía la respuesta proliferativa de linfocitos maternos inducidos por estímulo alógeno (57). Se ha detectado en el suero de mujeres con múltiples gestas y está ausente en mujeres nulíparas o con aborto espontáneo (58). Además sería responsable de la inhibición de la proliferación del cultivo mixto de linfocitos (MLC) en la pareja. Algunas características que se le reconocen al factor bloqueante es que es una IgG e inhibe la producción de MIF (Factor inhibidor de macrófagos) (59, 60).

La falta de este anticuerpo bloqueante como una causa de la pérdida fetal es controversial ya que no todas las mujeres con embarazos satisfactorios lo producen, no está ausente en todas las abortadoras que comparten alelos HLA con su pareja. Además la inhibición del MLC por este anticuerpo no es consistente en los diferentes reportes (61-63). Esta hipótesis no podría explicar los embarazos a término en mujeres con agammaglobulinemia (64).

Aproximadamente 35% de las mujeres multiparas genera anticuerpos citotóxicos anti-paternos en el post-parto. en mujeres con AER se ha encontrado que sólo el 12% forma anticuerpos citotóxicos. A este evento no se le ha atribuido ningún significado clínico (65).

En parejas con AER se ha practicado inmunización leucocitaria como terapia para la generación de anticuerpo bloqueante con leucocitos paternos o bien de diferentes donadores. Los trabajos en este sentido reportan desde 60% de eficiencia hasta falla total (66-70). En opinión de varios autores, deben realizarse estudios fisiológicos adecuados para determinar las repercusiones secundarias con esta terapia.

b). ANTIGENOS TLX (CD46).

Al estudiar parejas con AER que comparten antígenos HLA, McIntyre postuló la existencia de antígenos TLX (Trophoblast/Lymphocyte cross-reactive), responsables de estimular la respuesta inmune materna de protección al embrión. Al demostrar que los antígenos HLA compatibles incrementan la probabilidad de antígenos TLX similares en la pareja con abortos recurrentes espontáneos, sugiere que los antígenos TLX dispares entre madre y feto generan una respuesta inmune de protección para el trofoblasto traduciéndose en un embarazo a término (42, 72). Recientemente Purcell y sus colegas (73), demostraron que los antígenos TLX comparten propiedades físicas, bioquímicas e inmunológicas con el Cofactor proteico de membrana ó CD46 (MCP) sugiriendo que se trata de la misma molécula cuya función sería prevenir la lisis mediada por complemento del trofoblasto. Es ahora insostenible la hipótesis de reconocimiento alógeno TLX

en la relación materno-fetal. sin embargo las moléculas TLX/CD46 son polimórficas, lo cual no es requerido para proteínas que regulan complemento (74, 75).

El análisis de RFLPs (Fragmentos de Restricción Polimórficos), para CD46 demostró la ausencia de una banda polimórfica de 4.5 kb en 75% de mujeres con AER. Es posible que estas variaciones en las secuencias influyan en la transcripción y expresión de CD46, resultando en una proteína aberrante que no cumpla su función reguladora (76).

Una segunda molécula identificada en el trofoblasto e implicada en la inactivación del complemento es DAF (CD55) (Factor Acelerador de la Destrucción). Estas observaciones nos permitirían explicar porque el embarazo puede proceder en presencia de anticuerpos citotóxicos dirigidas contra componentes de la superficie del trofoblasto (77).

c). REGULACION DE MOLECULAS DEL SPH EN TROFOBLASTO.

La expresión regulada de genes del SPH en células del trofoblasto, el tejido fetal en contacto directo con la sangre y tejidos maternos, es el principal mecanismo propuesto, pero no el único en la prevención del rechazo del embrión (78).

Estudios con hibridación "in situ" han definido diferentes subpoblaciones de trofoblasto en base a su expresión de moléculas HLA clase I. El trofoblasto vellosos (citotrofoblasto y sincitiotrofoblasto) son negativos para la clase I en cambio el trofoblasto no-vellosos, incluyendo el endovascular invasor, es positivo para clase I. Los antígenos HLA clase II no han sido descritos en ninguna subpoblación del trofoblasto, sin embargo recientemente se detectó en estas células una molécula semejante a HLA-DP (79, 80).

Las moléculas clase I en trofoblasto fueron reconocidas como: HLA-G (nombre original 6.0), la cual ya había sido descrita como una molécula HLA clase I no-clásica (81). Está constituida por una cadena pesada monomérica (39kd) asociada a la beta-2-microglobulina, con una región citoplasmática corta debido a una mutación. Su expresión está limitada a tejido extra-embrionario y su concentración es mayor durante el primer trimestre del embarazo reduciéndose notablemente en trofoblasto durante el tercer trimestre (82-84).

Se han propuesto mecanismos de hipermetilación de genes clase I para la regulación de la expresión de moléculas clase I en trofoblasto, lo cual explicaría porque estas células no expresan estas moléculas después de exponerse a INF-gamma (78, 85). Sin embargo, existen reportes

contradictorios en este sentido ya que algunos investigadores han podido inducir estas moléculas (86), asociando este hallazgo en algunas mujeres AER con predominio de células T en el útero. Estas células podrían activarse y promover producción de INF-gamma, el cual induciría moléculas clase I, generando mecanismos citotóxicos que culminarían en daño fetal y aborto (87).

La función específica de la molécula HLA-G en trofoblasto se desconoce, pero su expresión limitada y pérdida del polimorfismo podrían sugerirnos función (es) específicas para las que existen diferentes propuestas.

- 1). Pueden mediar el reconocimiento de células infectadas por los linfocitos T citotóxicos (77, 88 - 90).
- 2). Esta molécula puede estar involucrada en crecimiento celular por asociación con otras moléculas aún no definidas (77, 82, 91).
- 3). El HLA-G soluble puede suprimir la respuesta materna citotóxica por uniones a receptores de células citotóxicas, bloqueando el reconocimiento de estructuras blanco en trofoblasto (82).

d). CELULAS NK (NATURAL KILLER) EN PLACENTA.

Se han descrito infiltrados celulares en la placenta humana aproximadamente 70% corresponde a células NK ó LGLs (Large Granular Lymphocytes), 20% a macrófagos y sólo el 10% a células T (92, 93).

Estudios funcionales y fenotípicos han demostrado que células LGLs (CD56 bright) residentes del útero migran directamente desde la médula ósea a este sitio y su proliferación es dependiente de progesterona, sin embargo no se descarta la posibilidad de que otra hormona pueda estar implicada. Alcanzan su mayor concentración durante el embarazo temprano y para el tercer trimestre sólo llegan a ser el 4% de la población decidual (94).

Loke sugiere que estas células tienen una función reguladora durante la implantación, limitando la migración del trofoblasto en la decidua materna por medio de la molécula HLA-G del trofoblasto. El modelo experimental de esta hipótesis aún es motivo de análisis (75).

e). PRODUCCION DE CITOCINAS POR LA UNIDAD FETO-PLACENTA.

La implantación es el resultado de la invasión del blastocisto en el endometrio, generando eventos de inflamación

y reparación (95). Evidencias recientes implican factores seminales específicos como estimuladores primarios de inflamación endometrial (96).

Las citocinas por su capacidad intrínseca de acción rápida, local y específica facilitan la comunicación intracelular que guía el proceso inflamatorio. Se ha comprobado que células del útero y la placenta son productoras de citocinas, con diferentes patrones de síntesis que obedecen al estímulo de hormonas esteroides (97). En forma constitutiva la unidad feto-placenta produce los factores: GSF-1 y GM-CSF que promueven crecimiento y/o diferenciación del trofoblasto y las IL-3, 4, 5, 6 y 10 que se producen durante los tres trimestres del embarazo (98, 99). El INF-gamma que es liberado tempranamente, con un pico máximo el 6o. día después de la fertilización, declinan rápidamente por la acción de IL-10 (100-102). El TGF-2 es igualmente producido en la interfase materno-fetal actuando potencialmente como inmunosupresor, inhibiendo la producción de IL-2 (102, 103).

Estudios en ratón han demostrado que la inoculación de CSF-1, GM-CSF e IL-3; promueve crecimiento intra-uterino con disminución de la pérdida fetal en hembras CBA (CBAXDBA/2) preñadas, con predisposición a la pérdida fetal. En contraste la IL-2, TNF-alfa e INF-gamma tienen un efecto deletéreo en las

hembras CBA como también en hembras con embarazos normales. Los mecanismos propuestos son la activación de células NK residentes del útero que dañaría el trofoblasto (54) y el bloqueo de los factores de crecimiento CSF-1, GM-CSF (104, 105).

Los resultados de estos hallazgos y las evidencias clínicas en humanos, dirigen al embarazo como promotor de una respuesta inmune humoral más que una respuesta inmune celular, ya que es más difícil proteger al feto de mecanismos efectores citotóxicos que humorales. La producción de anticuerpos resulta útil en todas aquellas especies que puedan transferirse a través de la placenta, resultando en una inmunidad protectora para el neonato (106).

El patrón de secreción de interleucinas, en el embarazo tiene analogía con el patrón de secreción que tienen las células Th-1 y Th-2. Una respuesta Th1 nos llevaría a un efecto deletéreo en el embarazo por la promoción de la respuesta inmune celular debido a la producción de IL-2, INF-gamma y TNF-alfa. Las células Th-2 secretan IL-4, 5, 6 y 10 y promueven una respuesta inmune humoral benéfica para la gestación. Las infecciones por patógenos intracelulares parecen exacerbarse en el embarazo generando una respuesta celular que es importante en respuesta a la infección pero deletérea para el embarazo (107).

Durante la gestación las enfermedades autoinmunes asociadas a inmunidad celular tal como artritis reumatoide tiene una tendencia a la remisión temporal y en 70% de los casos que están asociadas a inmunidad humoral como Lupus Eritematoso Sistémico se exacerban en el embarazo (108, 109).

Se ha propuesto que la interfase materno-fetal dirige una respuesta similar a Th-2, la cual no es necesariamente originada por células inmunes, sino por células propias de la interfase (107, 110). Los mecanismos propuestos para que se efectúe una respuesta Th-1 ó Th-2 en procesos infecciosos son controversiales, sin embargo se ha sugerido que la interacción de moléculas SPH con el antígeno y el receptor de células T (TCR), influyen en el tipo de respuesta Th1 ó Th-2 (111). Mecanismos de aloreactividad podrían ser responsables para la promoción de una respuesta Th-2, que lleven a implantación y desarrollo fetal.

C). HIPOTESIS GENETICA EN LA RELACION HLA Y ABORTO.

La segunda hipótesis propuesta es la "Genética", la cual sugiere que aquellas parejas, con AER y compartiendo alelos de los loci HLA también comparten genes recesivos letales ó deletereos implicados en desarrollo fetal (34, 71).

En el ratón existe una región ligada al SPH que controla el desarrollo embrionario, denominada Complejo T/t constituida por una serie de loci, cada uno de los cuales tiene varios alelos. Estos se han asociado a determinadas alteraciones en la embriogénesis con un amplio espectro que va desde malformaciones congénitas menores hasta muerte fetal (112, 113).

En la rata se ha observado que mutaciones en el complejo Grc (Complejo ligado a Crecimiento y Reproducción), también está asociado al SPH y da como resultado fenotipos específicos. En homocigotos puede reconocerse talla baja, fertilidad disminuida en hembras e infertilidad en machos, así como aumento en la susceptibilidad a cáncer en sus productos (114, 115).

En humanos, el estudio familiar de parejas AER ha demostrado que el aborto puede presentarse hasta en tres generaciones de la misma familia (116, 117), en otros trabajos el análisis de los árboles genealógicos de parejas con AER ha demostrado mayor incidencia de malformaciones congénitas, tumores trofoblásticos y cáncer en los familiares (118).

Al estudiar los padres de niños con S. De Down (119, 120) S. de Turner (121, 122, 123).. defectos del cierre del

tubo neural y anencefalia (124, 125, 126), se ha observado que estos también comparten con frecuencia antígenos HLA ó una heterogeneidad restringida para los locus HLA. Estas observaciones experimentales y clínicas nos sugieren que el segmento cromosómico que incluye los genes para reconocimiento de lo propio y no propio (SPH) incluye genes que controlan desarrollo y crecimiento, semejantes a los complejos T/t y Grc descritos en ratón y rata respectivamente.

Desde hace varios años diferentes investigadores han propuesto que existe una selección balanceada para los loci de la región HLA que es importante para el mantenimiento del polimorfismo de esta región (127, 128).

Estudios realizados en diferentes grupos étnicos han demostrado que existe un número menor de haplotipos homocigotos HLA de lo esperado, aún cuando el número de haplotipos presentes en esa población sea muy reducidos (129-132).

Se han desarrollado diferentes modelos estadísticos para explicar la deficiencia de homocigotos HLA y la pérdida fetal espontánea recurrente en parejas que comparten antígenos HLA para el mantenimiento del polimorfismos de este sistema. Estos trabajos suponen que la teoría Genética es la que mayor se ajusta

a estos modelos (133, 134). Sin embargo trabajos posteriores consideran que el modelo de genes recesivos letales o alelos deletereos puede no ser importantes, ya que se necesitaría una frecuencia extremadamente alta de estos genes, proponiéndose que el ser heterocigoto para el SPH es una ventaja en la interacción materno-fetal y el modelo de Selección Variable que resulta en el polimorfismo y la diversidad genética de las poblaciones (135) es la hipótesis mas probables.

En ratones se ha demostrado que existe ciertas preferencias selectivas de cruce entre individuos heterocigotos que homocigotos SPH, influyendo en la diversidad del SPH y demostrando la existencia de diferentes factores que actúan en el polimorfismo de las especies (136-138).

Las evidencias antes expuestas nos hablan de la existencia de una constelación de genes en humanos y roedores que mantienen la diversidad genética del SPH y cualquiera que sea la hipótesis que la sustente ya sea "Inmunológica ó Genética" ó ambas actuando a diferentes niveles, están influyendo en el AER en parejas que comparten antígenos HLA y en la generación del polimorfismo para el SPH.

III. HIPOTESIS.

La etiología de 40% de los abortos recurrentes (dos ó más abortos consecutivos) en la pareja aún se desconoce, habiéndose sugerido que este grupo de pacientes pueda tener una posible causa inmunológica.

Si bien es cierto que la madre se adapta inmunológicamente al feto semialógeno, los mecanismos responsables no son completamente conocidos. De experimentos en animales y observaciones en humanos se ha sugerido que el compartir alelos del SPH afecta el proceso reproductivo y es bien conocido que el SPH está involucrado en la regulación de la respuesta inmune y el control de los mecanismos de inflamación.

Es de interés entonces conocer la influencia de los genes del SPH en la pérdida fetal recurrente en la población mexicana.

IV. OBJETIVOS.

1. La tipificación de las moléculas clase I (HLA-A, -B y -C), clase II (HLA-DR, HLA-DQ) del SPH en parejas con aborto habitual y parejas control.

2. Comparar las frecuencias de los alelos del SPH entre los diferentes grupos.
3. Conocer si las parejas comparten entre si alelos del SPH en los diferentes grupos.
4. Establecer un banco de datos de parejas con aborto habitual que sirva de cohorte para estudios ulteriores.
5. En base a los resultados obtenidos formular una posible explicación para la relación aborto habitual y el SPH.

V. MATERIAL Y METODO.

A). PACIENTES.

La población estudiada consistió de 58 parejas con historia clínica dos abortos recurrentes del primer trimestre. sin causa aparente como mínimo provenientes de los siguientes centros hospitalarios.

Hospital General de México SSa.	-	25 parejas
Instituto de Perinatología SSa.	-	29 parejas
Hospital de la Mujer SSa.	-	2 parejas
Hospital Gral. "Manuel Gea Glez." SSa.	-	2 parejas

Los pacientes fueron evaluados clínicamente y por estudios de gabinete para descartar una posible etiología de sus abortos, siendo sólo seleccionado aquellos que completaban como normal ó negativo el siguiente esquema:

A. EVALUACION UTERINA

- Ultrasonido
- Histerosalpingografía

B. EVALUACION ENDOCRINA

- Perfil tiroideo
- Determinaciones hormonales (prolactina, progesterona, LH, FSH).

C. EVALUACION MICROBIOLÓGICA.

- Cultivos Bacteriológicos del cervix
- Títulos de anticuerpos contra Citomegalovirus, Toxoplasma, Sífilis.

D. EVALUACION CITOGENETICA.

- Cariotipo en la pareja
- Bandas G y C

E. DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI-CARDIOLIPINA

F. DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI-ESPERMA EN MOCO CERVICAL.

G. NO PADECER ENFERMEDADES AUTOINMUNES.

H. ANALISIS DEL SEMEN EN VARONES (Concentración de espermatozoides, identificación de formas patológicas, viscosidad, pH, motilidad).

Las parejas estudiadas fueron subdivididas de acuerdo a la historia clínica de sus abortos en : ABORTADORAS PRIMARIAS; aquellas parejas que sólo presentan abortos (51 parejas).

ABORTADORAS SECUNDARIAS, aquellas que después del nacimiento de un hijo presentan abortos recurrentes y subsecuentes (7 parejas).

Las parejas abortadoras primarias tuvieron un total de 168 abortos, en un rango de 2 a 7 abortos por pareja con una $X=3.29$ abortos. La edad de las parejas en el momento del estudio fué:

Mujeres entre 20-34 años con una $X = 27.83$ años

Hombres entre 21-43 años con una $X = 29.62$ años

Las parejas abortadoras secundarias tuvieron un total de 21 abortos en un rango de 2 a 6 abortos con una $X= 2.57$ abortos por pareja y con un hijo como mínimo, la edad de las parejas al momento del estudio fué:

Mujeres entre 27-35 años con una X = 30.71 años
Hombres entre 27-36 años con una X = 31.85 años . Como criterio de inclusión también se solicitó que los padres de la pareja y sus abuelos fueran mexicanos. Las parejas firmaron una carta de aceptación permitiendo se les realizará el estudio, aceptada por los Comités de Etica de los centros hospitalarios participantes.

B). CONTROLES.

El grupo control lo constituyeron 32 parejas con nivel socio-económico similar al de los pacientes, con abuelos y padres mexicanos. Estas parejas acudieron al Servicio de Gineco-obstetricia del Hospital General de México, para consulta de rutina. El rango de edad al momento del estudio fué:

Mujeres entre 19-35 años con una X = 30.23

Hombres entre 19-35 años con una X = 32.91

Se sugirió que tuvieran fertilidad probada con al menos dos hijos, sin problemas de abortos o infertilidad secundaria; 19 parejas (59.3%) tenían de 3 a 8 hijos. Las 13 parejas restantes (40.7%) tenían al menos dos hijos con un total de 110 embarazos a término.

El estudio se realizó con pleno consentimiento de la pareja, firmando la carta aceptada por el Comité de Etica del

Hospital General de México SSA.

El estudio se realizó íntegramente en el Servicio de Genética del Hospital General SSA. desde 1991 a la fecha.

C). TIPIFICACION DE ANTIGENOS CLASE I Y II.

Los antígenos de histocompatibilidad (HLA) se tipificaron mediante la técnica de microlinfocitotoxicidad (139, 140) utilizando linfocitos totales de sangre periférica aislados por medio de un gradiente de densidad (141). Se separan a continuación los linfocitos B con el reactivo Lympho-Kwik (One lambda, California USA). La tipificación serológica de los antígenos HLA-A, -B y -C fué realizada en células mononucleares y los antígenos HLA-DR y -DQ en células B. La técnica es similar en ambos casos con tiempos de incubación más prolongados para los antígenos clase II (142). Las placas de tipificación fueron obtenidas comercialmente (C-Six Diagnostics, Mequon, Wisconsin, USA). conteniendo 210 antisueros. 140 para definir 40 especificidades de los loci HLA-A, -B, -C y 70 antisueros para definir especificidades de los loci HLA-DR y -DQ.

El principio de la técnica de microlinfocitotoxicidad. es la incubación de los linfocitos con un suero específico anti-HLA. seguido por la incubación con una fuente de complemento. El complemento sólo reacciona contra la

superficie celular que, previamente ha sido atacada por el anticuerpo (fijándose a ella). La deformación de la membrana provocará la introducción de eosina y formalina dentro de la célula y aquellas que se tiñen indican una reacción positiva para un alelo determinado y las células no teñidas indican reacción negativa.

a). EQUIPO.

- Centrifuga Clínica
- Microcentrifuga
- Estufa para Incubación.
- Congelador a - 70°C
- Microscopio Optico
- Microscopio fase invertida

b). MATERIAL.

- Jeringas y agujas hipodérmicas desechables
- Tubos de plástico con tapón de rosca 50 ml
- Tubos de vidrio de 13 x 100 mm
- Tubos Fisher capacidad 2 ml.
- Pipetas Pasteur 9 pulgadas
- Pipetas Serológicas
- Hemocitómetro con cubre objetos
- Jeringas de disparo de 1 u l y 5 u l

c). REACTIVOS.

- Heparina libre de fenol
- Solución de Hank's
- Solución de gradiente de densidad. Lymphoprep, Nycomed Pharma Oslo Norway
- Medio de Cultivo Mc Coys 5a Mod. Micro-Lab.
- Eosina Y en polvo en solución al 5% en agua
- Solución de formalina

d). MATERIAL BIOLÓGICO.

- 20 ml. sangre heparinizada
- Suero ternera fetal
- Microplacas Tipificación HLA-A. -B. -C 2 placas de 72 pozos (C-Six Diagnostics).
- Complemento de conejo clase I (C-Six Diagnostics).
- Complemento de conejo clase II (C-Six Diagnostics).

e). PROCEDIMIENTO.

AISLAMIENTO DE LINFOCITOS.

1. Obtener 20 ml. de sangre venosa en jeringa con heparina.
Diluir v/v con solución de Hank's.

2. Colocar la sangre diluida en tubos de 13 x 100 mm en alicuotas de 5 ml. aproximadamente, agregando con una pipeta Paster 3 ml. de solución Lymphoprep.
3. Centrifugar a 1 500 rpm por 40 min. ó a 2 000 rpm por 30 min.
4. Retirar el anillo de células mononucleares y lavar en otro tubo con solución de Hank's, centrifugando a 1 500 rpm por 5 min.
5. Descartar el sobrenadante y resuspender el botón con solución de Hank's, centrifugar a 1 500 rpm por 5 min. Repetir dos veces más este paso.
6. Ajustar la suspensión celular a cuatro millones de células por ml con medio de cultivo Mc. Coy suplementado al 10% con suero de ternera fetal.

TIPIFICACION DE ANTIGENOS HLA-A, -B Y -C (CLASE I).

1. Retirar las placas del congelador 15 min. antes de su uso, esperando a que tomen la temperatura ambiente. Cada una de las microplacas contiene un antisuero HLA con especificidad conocida.

2. Sembrar 1ul de la suspensión celular anterior. en cada pozo de la microplaca, e incubar 60 min a temperatura ambiente.
3. Agregar 5ul de suero de conejo por pozo. Incubar 60 min a temperatura ambiente.
4. Adicionar 5ul de eosina al 5% por pozo. Incubar 3 min. a temperatura ambiente y agregar 5ul de formalina por pozo.
5. Leer las microplacas en el microscopio de fase invertida.

TIPIFICACION DE ANTIGENOS HLA-DR Y DQ (CLASE II).

Una vez obtenidas las células mononucleares de sangre venosa, deben eliminarse los macrófagos y los linfocitos T, para emplear solamente los linfocitos B en esta tipificación, para esto se empleó el reactivo "Lympho-Kwik B" que separa las células B por lisación de las otras estirpes celulares, utilizando un anticuerpo monoclonal contra CD19.

1. Centrifugar y transferir a un tubo Fisher la suspensión celular antes empleada.
2. Adicionar 800ul del Reactivo 1 de "Lympho-Kwik B" y mezclarlo bien. Incubar a 37°C durante 1 hr. en una estufa ó baño termostático. mezclando ocasionalmente el contenido de cada tubo por inversión.

3. Verter en el mismo tubo 200 μ l de Medio McCoy suplementado, centrifugando 2 min a 5 000 rpm.
4. Eliminar el sobrenadante y añadir 200 μ l del Reactivo 2, mezclando bien, centrifugar 2 min. a 5 000 rpm.
5. Eliminar el sobrenadante y lavar los linfocitos B 2 veces más con medio de cultivo, centrifugando 2 min a 5 000 rpm.
6. Resuspender en medio de cultivo y ajustar la suspensión celular a cuatro millones por ml.
7. Realizar los pasos del 1 al 5 del inciso E.3 con las siguientes modificaciones: en el paso 3 incubar 120 minutos a temperatura ambiente o en una cámara húmeda a 37°C.

D. ANALISIS ESTADISTICO.

Para el análisis estadístico se usaron las pruebas de chi-cuadrada (χ^2).

La comparación entre los grupos de estudio en función de dos características independientes, se efectúa generalmente mediante tablas de contingencia 2 x 2.

Para poder establecer la probabilidad de que ambos grupos difieran uno del otro en forma significativa y que su

variación no haya sido sólo debida al azar. la tabla de 2 x 2 se evalúa mediante la prueba estadística X^2 .

$$X^2 = \frac{(ad-bc)^2 N}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

Si el valor obtenido de la prueba de X implica un valor de "p" menor a 0.05, la hipótesis nula que dió lugar a la comparación se rechaza. Un valor de $p < 0.05$ significa que en menos de 1 en 20 casos se cometen errores al rechazar la hipótesis nula.

El valor de "P" se obtiene al interpolar en tablas de distribución X^2 en función de los grados de libertad de la prueba. Para todas las tablas de contingencia de 2 x 2 se considera un grado de libertad. Si las cifras esperadas en a, b, c, ó d fueron menores a 5, la prueba de X^2 deja de tener validez y se debe utilizar en este caso la prueba exacta de Fisher que nos da directamente el valor de "p".

$$f = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{a!b!c!d!N!}$$

El valor de "p" fue corregido multiplicándola por el número de comparaciones realizadas en las tablas de contingencia (10 para HLA-A, 16 para HLA-B, 8 para HLA-DR) con el fin de dar más fuerza a la comparación.

VI. RESULTADOS.

Las tablas 1, 2 y 3 muestran los datos de fertilidad, haplotipos y número de antígenos compartidos en cada una de las parejas que conforman los grupos de Abortadoras Primarias (AP), Abortadoras Secundarias (AS) y Grupo Control (GC) respectivamente.

En la Tabla 1 se aprecia que el 92.1% de las parejas con AP comparten por lo menos un antígeno y de estos los más frecuentemente compartidos se enumeran a continuación; siendo estos también los más frecuentes en población mexicana.

ALELO	PAREJAS QUE LO COMPARTEN	PORCENTAJE
A 2	22	43.1
DR 4	10	19.6
B 35	9	17.6
B 5	6	11.7

En el grupo de AS (Tabla 2), tres parejas no compartieron ningún antígeno (45.8%) de aquellas que compartieron al menos un antígeno el más común fué el A 2 (28.5%).

En el Grupo Control (Tabla 3) las parejas que compartieron al menos un antígeno fueron 31.4%, siendo los más relevantes:

ALELO	PAREJAS QUE LO COMPARTEN	PORCENTAJE
A 2	6	18.7
A 9	1	3.1
B 8	1	3.1
DR 2	1	3.1
DR 8	1	3.1

En la tabla 4 se muestra para cada locus HLA, el número y el porcentaje respectivo de alelos compartidos, en cada uno de los grupos estudiados. Al analizarla, es interesante observar que para el locus HLA-A,9 parejas (28%) del Grupo Control y 36 parejas (70%) con AP compartieron un alelo con una diferencia significativa de $P < 0.001$, en donde el antígeno HLA-A2 fué el más compartido en parejas de ambos grupos, este alelo tiene una elevada frecuencia genotípica en las diferentes poblaciones del mundo que han sido tipificadas, por lo cual no parecería raro este hallazgo.

Para el locus HLA-B sólo una pareja control compartió un antígeno que representa el 3%, mientras que para las parejas AP el 51% tenía por lo menos un antígeno similar, siendo esta diferencia significativa ($P < 0.001$) marcando la relevancia de compartir este locus para el grupo de AP.

En el locus HLA-DR se encontró un hallazgo similar, ninguna pareja del grupo control compartió ningún alelo de este locus y en las parejas AP el 43% y el 2% compartieron 1 ó 2 antígenos de

este locus respectivamente con una $P < 0.001$ para esta diferencia, de nueva cuenta se muestra la importancia de compartir alelos para este locus en los pacientes con AP.

En el grupo de AS al compararse con el Grupo Control las diferencias no tuvieron significancia, no obstante el grupo de AS es un grupo reducido, por lo cual podría resultar poco representativo estos resultados, sin embargo reportes en la literatura han propuesto que en este grupo de parejas sus abortos no están relacionados con aloreactividad.

En las Tablas 5, 6 y 7 se muestran las frecuencias fenotípicas (ff) denotadas en porciento para cada alelo de cada uno de los locus en los grupos que fueron estudiados (AP, AS, y GC). Además los grupos fueron subdivididos en hombre y mujer para determinar la ff según el sexo para buscar la existencia de diferencias entre los subgrupos y los grupos estudiados.

Debe mencionarse que en la Tabla 5 los splits A 23 y A 24 se conjuntaron en el alelo A 9, debido a que en diferentes casos no fué posible diferenciar entre uno y otro, lo mismo sucedió en la Tabla 6 con B 5 y sus splits B 51 y B 52, B 12 con B 44 y B 45, B 14 con B 64 y B 65, B 15 con B 62 y B 63, B 16 con B 38 y B 39, B 17 con B 57 y B 58, B 21 con B 49 y B 50, B 22 con B 55 y B 56.

En el Grupo Control al subdividirse por sexo encontramos diferencias significativas en los alelos A 11 ($P=0.04$) y el DR 7 ($P=0.01$), mientras que en las parejas con AP encontramos el alelo B 5 ($P<0.05$), no existieron diferencias en los subgrupos de AS.

Las frecuencias fenotípicas (ff) de cada uno de los grupos, fueron comparados entre sí, encontrándose diferencias significativas ($P<0.01$) en los alelos A 30, B 7, B 12 y B 35 al compararse el Grupo Control con las parejas con AP, mientras que al compararse AS con GC no existieron diferencias significativas.

Al corregir los valores de P de cada una de las diferencias significativas por el número de antígenos tipificados, estos no conservaron su significancia estadística.

VII. DISCUSION.

El estudio de la relación entre los genes del sistema HLA y AER ha resultado de mucho interés en la búsqueda de una probable explicación para este evento, sobre todo cuando la causa que lo ocasiona se desconoce.

En éste trabajo se demuestra que aquellas parejas con aborto primario comparten más frecuentemente alelos del sistema HLA que las parejas controles en la población mexicana estudiada. Al comparar el número de antígenos compartidos para cada locus estudiado (HLA-A, -B y -DR) en ambos grupo la diferencia entre ellos resultó significativa ($P < 0.01$). Sin embargo el compartir antígenos de los loci HLA-B y DR parecería tener mayor influencia en la pérdida fetal, lo cual concuerda con la mayoría de los estudios reportados (34-39).

A pesar de que un buen número de los trabajos realizados confirman que las parejas con AER comparten antígenos del SPH, existen otros que refutan estos hallazgos (143), lo cual hace controversial el papel que desempeñan los antígenos HLA en el AER.

Está inconsistencia puede explicarse por heterogeneidad en el grupo de pacientes, tamaño de la muestra, diferencias genéticas y socio-demográficas entre el grupo control y el de los pacientes además del número de antígenos usados para la tipificación.

El presente trabajo tiene un número adecuado de abortadoras primarias (51 parejas), sin embargo el número de parejas con aborto secundario (7 parejas) es reducido por lo cual los

resultados obtenidos podrían no ser representativos. Los pacientes con AP fueron estrictamente seleccionados de acuerdo a los criterios de inclusión antes citados lo cual hace un grupo de pacientes homogéneo en su padecimiento. El grupo control genética y socio-demográficamente fué similar al de los pacientes. El número de antígenos usados para la tipificación fueron aquellos disponibles en el mercado y que cubren las especificidades hasta ahora descritas para los diferentes loci tipificados.

En las parejas abortadoras primarias como ya se mencionó el compartir antígenos de los locus HLA-B y -DR tienen mayor trascendencia en la pérdida fetal.

Ober (39), refiere que el compartir antígenos de los locus HLA-B y -DR entre las parejas afecta el proceso reproductivo; sin embargo en su población el compartir alelos HLA-DR contribuye en mayor grado a pérdidas fetales muy tempranas y reduce la fertilidad, sugiriendo que el compartir genes clase II del SPH afecta la implantación de embriones.

En nuestra población los locus HLA-B y -DR tienen la misma importancia, no obstante se ha documentado que el locus HLA-B tiene gran relevancia en la selección natural en tribus Amerindias (132, 144, 145). Análisis de secuencias del DNA de

estos individuos demostraron que un epítoto localizado en el tercer exón del dominio alfa; el cual no se ha encontrado en otras poblaciones y que tiene una influencia primaria en los mecanismos de selección natural. Esta selección puede ser evaluada por análisis de secuencias de los alelos compartidos en parejas infértiles o con la observación de deficiencias de homocigotos para este locus en la población normal.

En éste trabajo podría considerarse que los genes del locus HLA-B actuarían en una selección natural para embriones homocigotos para este locus y los genes HLA-DR a nivel de implantación del embrión actuarían mediante el reconocimiento alogénico, estimulando la producción de citocinas que faciliten la implantación y desarrollo fetal.

De esta manera genes del SPH en particular HLA-B influyen en el resultado del embarazo por selección de secuencias de DNA específicas que puedan ser deletéreas en el proceso reproductivo y más aún mantener el polimorfismo de este locus.

Sin embargo como mencionan algunos autores el análisis molecular de los alelos compartidos entre las parejas puede darnos una mayor información sobre los mecanismos que están actuando el proceso reproductivo (146).

VIII. CONCLUSIONES.

- Las parejas abortadoras primarias comparten un número mayor de alelos para cada locus estudiado, al compararse con el grupo control.
- Estas diferencias son significativas para por lo menos un alelo compartido para los loci HLA-A, -B y -DR, sin embargo estas diferencias son más acentuadas en HLA-B y -DR.
- En otros trabajos en la literatura se ha reportado que el compartir antígenos del locus HLA-DR tiene mayor importancia para el proceso reproductivo. En la población estudiada son igualmente trascendente los loci HLA-B y -DR.
- En las parejas abortadoras secundarias no existieron diferencias significativas al compararse con el grupo control y podría ser poco representativo para ser concluyente debido al tamaño de muestra.
- La existencia de dos hipótesis para explicar la relación de compartir antígenos de los loci HLA y AER. La genética en la cual al compartir antígenos HLA también se comparten genes recesivos o deletéreos que influyen en el proceso reproductivo y la embriogénesis. La hipótesis inmunológica en la cual los genes SPH actuarían directamente en el aloreconocimiento materno-fetal para

la generación de una respuesta inmune adecuada para la implantación y desarrollo fetal, ambas no son excluyentes y pueden actuar a diferentes niveles en el Proceso Reproductivo.

IX. BIBLIOGRAFIA .

- 1.- Dunham I, Sargent CA, Trowsdale J, Campbell RD. Molecular mapping of the human major histocompatibility complex by pulsed-field gel electrophoresis. Proc Natl Acad Sci (1987)84:7237-41.
- 2.- Lawrence SK, Smith CL, Srivastava R, Cantor CR, Weissman SM. Megabase scale mapping of the HLA gene complex by pulsed field gel electrophoresis. Science (1987)235:1387-90.
- 3.- Trowsdale J, Ragoussis J, Campbell DR. Map of the human MHC. Immunol Today (1991)12:443-46.
- 4.- Geraghty DE. Structure of the HLA class I region and expression of its resident genes. Curr Opin Immunol (1993)5:3-7.
- 5.- Bodmer WF, Kishimoto T, McMichael AJ. Nomenclature for Factors of the HLA System. Tissue Antigens (1992)39:1-13.
- 6.- Bodmer JG, Kennedy LJ, Lindsay J, Wasik AM. Applications of serology and the ethnic distribution of three locus HLA haplotypes. Brit Med Bull (1987)43:94-121.
- 7.- Spies T, Blanck G, Bresnahan M, Sands J, Strominger JL. A new cluster of genes within the human major histocompatibility complex. Science (1989)243:214-17.

- 8.- Monaco JL. Structure and function of genes in the MHC class II region. *Curr Opin Immunol* (1993) 5:17-20.
- 9.- Strominger JL. Biology of the human histocompatibility leukocyte antigen (HLA) system and a hypothesis regarding the generation of autoimmune diseases. *J Clin Invest* (1986)77:1411-15.
- 10.- Alper CA, Awdeh ZL, Raum DD, Yunis EJ. Hypothesis extended major histocompatibility complex haplotypes in man: role of alleles analogous to murine T mutants. *Clin Immunol Immunopathol* (1982)24:276-85.
- 11.- Awdeh ZL, Raum DD, Alper CA. Major Histocompatibility complex (MHC) linked complement haplotypes (complotypes). *Fed Proc* (1981)40:1066-79.
- 12.- Strachan T. Molecular genetic and polymorphism of class I HLA antigens. *Brit Med Bull* (1987)43:1-14.
- 13.- Strominger JL. Structure of class I and class II HLA antigens. *Brit Med Bull* (1987)43:81-93.
- 14.- Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, et al. Structure of the human class I histocompatibility HLA-A2. *Nature* (1987a) 329:506-12.
- 15.- Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, et al. (The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature* (1987b)329:512-18.

- 16.- Klein J. Origin of the major histocompatibility complex polymorphism the trans-species hypothesis. *Hum Immunol* (1987)19:155-62.
- 17.- Brown JH, Jardetzky T, Gorga JC, Stern LJ, et al. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigens HLA-DR. *Nature* (1993)364:33-39.
- 18.- Tulp A, Verwoerd D, Dobberstein B, Ploegh H, Pleters J. Isolation and characterization of the intracellular MHC class II compartment. *Nature* (1994)369:120-26.
- 19.- Bidwell J. DNA-RFLP analysis and genotyping of HLA-DR and DQ antigens. *Immunol Today* (1988)9:18-22.
- 20.- Thorsby E, Lundin EA, Ronningen KS, Sollid LM, Vartdal F. Molecular basis and functional importance of some disease associated HLA polymorphism. *Tissue Antigens* (1989)34:39-49.
- 21.- Basset ML, Holliday JW, Powell LW. HLA typing in idiopathic hemochromatosis: distinction between homozygotes and heterozygotes with biochemical expression. *Hepatology* (1981)1:120-26.
- 22.- Edmonds DK, Lindsay KS, Miller JF, Williamson E, Wood FJ. Early embryonic mortality in women. *Fertil Steril* (1982)38:447-57.
- 23.- Gill TJ III. MHC linked genes affecting reproduction, development and susceptibility to cancer in: Coulam C, Faulk WP, McIntyre (eds) *Immunological Obstetrics*. WW Norton. New York (1992)261-96.

- 24.- Strirrat GM. Recurrent miscarriage II: Clinical associations, causes and management. Lancet (1990)336:728-33.
- 25.- Medawar PB. Some Immunological and Endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. Symp Soc Exp Biol (1953)7:320-28.
- 26.- Billingham RE. Transplantation immunity and the maternal-fetal relation. N Engl J Med (1964)270:667-672.
- 27.- Beer AE, Billingham RE. Mechanism of non rejection of foetoplacental allografts. Folia Biol (Praha) (1980)26:225-43.
- 28.- Thomas ML, Horger JH, Wagener DK, Rabin BS, Gill TJ III. HLA sharing and spontaneous abortion in human. Am J Obstet Gynecol (1985)151:1053-58.
- 29.- Palm J. Maternal fetal histocompatibility in rats: Escape from adversity. Cancer Res (1974)34:2061-67.
- 30.- Komlos L, Zamir R, Joshva H, Halbrecht I. Common HLA antigens in couples with repeated abortion. Clin Immunol Immunopathol (1977)17:330-37.
- 31.- Schacter B, Muir A, Gyves M, Tasin M. HLA-A, -B compatibility in parents of offspring with neural tube defects or couples experiencing involuntary fetal wastage. Lancet (1979)1:796-799.

- 32.- Oksenberg JR, Persitz E, Amar A, Brautbar C. Maternal-paternal histocompatibility: Lack of association with habitual abortions. *Fertil Steril* (1984)42:389-95.
- 33.- Coulam CB. Implantation test in the evaluation of reproductive disorders: A Critical Review. *Am J Obstet Gynecol* (1992)167:1844-51.
- 34.- Gill TJ III. Immunogenetics of spontaneous abortion in human. *Transplantation* (1983)35:1-6.
- 35.- Reznikoff-Etievant MF, Edelman P, Muller JF, Pirion F, Surean C. HLA-DR locus and maternal-foetal relation. *Tissue Antigens* (1984)24:30-34.
- 36.- Gerencer M, Singer Z, Pfeifer S, Tomaskovic M, Humor I, Mezulic V, Kuvacic. HLA and red blood group antigens in pregnancy disorders. *Tissue Antigens* (1988)32:130-38.
- 37.- Johnson PM, Chia KV, Risk JM, Barnes RMR, Woodeow JC. Immunological and immunogenetic investigation of recurrent spontaneous abortion. *Dis Markers* (1988)6:163-171.
- 38.- Risk JM, Johnson PM. Genetic studies of the MHC region in human recurrent spontaneous abortion in: Wegmann TG, Gill TJ, Nisbett-Browu E (eds). *Molecular and cellular immunobiology of the maternal-fetal interface*. Oxford University Press, NY. (1991)39-57.
- 39.- Ober C, Elias S, Kostyu DD, Hauck WW. Decreased fecundability in Hutterite couples sharing HLA-DR. *Am J Hum Genet* (1992)50:6-14.

- 40.- Beer AE, Quebbeman JF, Ayers JWT, Haines RF. Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses and chronic habitual abortions in human. *Am J Obstet Gynecol* (1981)141:987-97.
- 41.- Unander AM, Oding LB. Habitual abortion: parental sharing of HLA antigens, absence of maternal blocking antibody and suppression of maternal lymphocytes. *Am J Reprod Immunol* (1983)4:171-78.
- 42.- Mc Intyre JA, Mc Connachie PR, Taylor CG, Faulk WP. Clinical, immunologic, and genetic definitions of primary and secondary recurrent spontaneous abortions. *Fertil Steril* (1984)42:849-55.
- 43.- Coulam CB, Moore SB, O'Fallon WM. Association between major histocompatibility antigen and reproductive performance. *Am J Reprod Immunol Microbiol* (1987)14:54-58.
- 44.- Ho HN, Gill TJ III, Nsieh RP, Hsieh HJ, Lee TY. Sharing of human leukocyte antigens in primary and secondary recurrent spontaneous abortions. *Am J Obstet Gynecol* (1990)163:164-178.
- 45.- Takanizawa M, Juyi T, Tsuneyoshi H, Niede M, Fujii T, Kawana T, Mizuno M. Recurrent spontaneous abortion and human leukocyte antigen DRw8. *Am J Obstet Gynecol* (1987)157:514-515.
- 46.- Smith JB, Cowchock S, Hankinson B, Iftekhar A. Association of HLA-DR5 with recurrent spontaneous abortion in women treated with paternal leukocytes. *Arthritis and Rheumatism* (1989)32:1572-76.

- 47.- Laitinen T, Lokki L, Tulppala M, Ylikorkala O, Koskimies S. Tumor necrosis factor B gene polymorphism in relation to complotype in couples with spontaneous abortions and in control families. Scand J Immunol (1992)35:131-135.
- 48.- Laitinen T, Koskimier S, Westman P. Foeto-Maternal compatibility in HLA-DR, -DQ and -DP loci in finnish couples suffering from recurrent spontaneous abortions. Eur J Immunol (1993)20:249-58.
- 49.- Ober C, Martin AO, Simpson JL, Hauck WW, Amos DB, Kosyту DD, Fotino M, Allen FH. Shared HLA antigens and reproductive performance among Hutterites. Am J Hum Genet (1983)35:994-1104.
- 50.- Ober CL, Hauck WW, Kostyu DD, O'Brien E, Elias S, Simpson JL. Adverse effects of human leukocyte antigen DR sharing on fertility a cohort study in a human isolate. Fertil Steril (1985)44:227-32.
- 51.- Ober CL, Elias S, O'Brien E, Kostyu DD, Hauck WW, Bombard A. HLA sharing and fertility in Hutterite couples: evidence for prenatal selection against compatible fetuses. Am J Reprod Immunol(1988)18:111-15.
- 52.- Clark DA, Mc Dermontt MR, Szewczuk MR. Impairment of host-versus-graft reaction in pregnant mice. II. Selective suppression of cytotoxic T cell generation correlation with soluble activity and with successful allogenic pregnancy. Cell Immunol (1980)52:106-18.

- 53.- Chaouat G, Kolb JP, Kiger N, Stanislawski M, Wegmann TG. Immunologic consequences of vaccination against abortions in mice. *J. Immunol* (1985)134:1594-98.
- 54.- Chaouat G, Menu E, Clark DA, Dy M, Minkowski M, Wegmann TG. Control of fetal survival in CBAXDBA/2 mice by lymphokine therapy. *J Reprod Fert* (1990)89:447-58.
- 55.- Rocklin RE, Kitzmiller JL, Carpenter CB, Garovoy MR, David JR. Maternal fetal relation; absence of an immunologic blocking factor from the serum of women with chronic abortion. *N Engl J. Med* (1976)295:1209-13.
- 56.- Rocklin RE, Kitzmiller JL, Garvey MR. Maternal-fetal relation. II Further characterization of an immunologic blocking factor that develops during pregnancy. *Clin Immunol Immunopathol* (1982)22:305-315.
- 57.- Segars JH, Niblack GB, Osteen KG. The human blastocyst produces a soluble factor (s) that interferes with lymphocyte proliferation. *Fertil Steril* (1989)52:381-87.
- 58.- Fizez D, Bousquet J. Absence of factor blocking cellular cytotoxicity in the serum of women with recurrent abortion. *Br J Obstet Gynecol* (1983)90:453-61.
- 59.- Pence H, Petty WH, Rocklin RE. Inhibición of MIF production by maternal serum factor. *J Immunol* (1975)114:525-529.
- 60.- Gurka G, Rocklin RE. Reproductive Immunology. *JAMA* (1987)258:2983-87.

- 61.- Stimson WH, Strachen AF, Shepherd A. Studies on the maternal immune response to placental antigens: absence of a blocking factor from the blood of abortions-prone women. Br J Obstet Gynecol (1979)86:41-45.
- 62.- Sargent IL, Wilkins T, Redman CW. Maternal immune response to the fetus in early pregnancy and recurrent miscarriage. Lancet (1988) i:1099-1103.
- 63.- Hill JA. Immunological mechanism of pregnancy maintenance and failure: A critique of theories and therapy. Am J Reprod Immunol (1990)22:33-42.
- 64.- Rodger JC. Lack of a requirement for a maternal humoral immune response to establish or maintain successful allogenic pregnancy. Transplant (1985)40:372-75.
- 65.- Scott JR, Rote NS, Branch DW. Immunologic aspect of recurrent abortion and fetal death. Obstet Gynecol (1987)70:645-56.
- 66.- Mowbray JF, Gibbings CR, Sidgwick AS. Effects of transfusion in women with recurrent spontaneous abortion. Transplant Proc (1983)15:896-99.
- 67.- Unander AM, Lindholm A. Transfusions of leukocyte-rich erythrocyte concentrates: A successful treatment in select cases of habitual abortion. Am J Obstet Gynecol (1986)154:516-520.

- 68.- Hofmeyr GJ, Joffe MI, Bezwoda WR, Iddekinge B. Immunologic investigation of recurrent pregnancy loss and consequences of immunization with husbands' leukocytes. *Fertil Steril* (1987) 48:681-84.
- 69.- Cauchi MN, Luin D, Young DE, Kloss M, Pepperell RJ. Treatment of recurrent aborter by immunization with paternal cells-controlled trial. *Am J Reprod Immunol* (1991)25:16-17.
- 70.- Ho HN, Gill TJ III, Hsieh HJ, Jiang JJ, Lee TY, Hsieh CY. Immunotherapy of recurrent spontaneous abortions in a chinese population. *Am J Reprod Immunol* (1991a)25:10-15.
- 71.- Gill TJ III. Invited Editorial: Influence of MHC and MHC-linked genes on reproduction. *Am J Hum Genet* (1992)50:1-5.
- 72.- McIntyre JA, Faulk WP, Verhulst SL, Cocliver J. Human trophoblast lymphocyte cross-reactive (TLX) antigens define a new alloantigens. *Science* (1983)222:1135-39.
- 73.- Purcell DEJ, McKenzie IFC, Lublin DM, Johnson PM, Atkinson JP, Oglesby TJ, Deacon NJ. The human cell surface glycoproteins Huly-ms, Membrane Co-factor Protein (MCP) of the Complement System, and trophoblast leucocyte-common (TLX) Antigen are, CD46. *Immunology* (1990)70:155-61.
- 74.- Hunt JS, Hsi BL. Evasive strategies of trophoblast cells: Selective Expression of Membrane Antigens. *Am J Reprod Immunol* (1990)23:57-63.

- 75.- Loke YW, King A. Recent developments in the human maternal-fetal immune interaction. *Curr Opin Immunol* (1991)3:762-66.
- 76.- Risk JM, Flamagan BF, Johnson PM. Polymorphism of the human CD46 gene in normal individuals and in recurrent spontaneous abortion. *Hum Immunol* (1991)30:162-67.
- 77.- Hunt JS, Fishback JL, Chumbley G, Loke YW. Identification of class I MHC mRNA in human first trimester trophoblast cells by in situ. *J Immunol* (1990)144:4420-25.
- 78.- Hunt JS, Orr HT. HLA and maternal-fetal recognition. *FASEB J* (1992)6:2344-48.
- 79.- Redman CWG. HLA-DR antigen on human trophoblast. A review. *Am J Reprod Immunol* (1983)3:175-77.
- 80.- Starkey PM. Reactivity of human trophoblast with an antibody to HLA class II antigens: HLA-DP. *J. Reprod Immunol* (1987)11:63-70.
- 81.- Geraghty DE, Koller EH, Orr HT. A human MHC class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. *Proc Natl Acad Sci* (1987)84:9145-49.
- 82.- Kovats S, Main EK, Librach C, Stubblebine M, Fisher SJ, DeMars R. A class I antigens, HLA-G, expressed in human trophoblast. *Science* (1990)248:220-23.

- 83.- Ellis SA. HLA-G : At the interface. Am J Reprod Immunol (1990)23:84-86.
- 84.- Wei X, Orr HT: Differential expression of HLA-E, HLA-F and HLA-G transcripts in human tissue. Human Immunol (1990)29:131-42.
- 85.- Hunt JS, Andrews GK, Wood GW. Normal trophoblast resist induction of class I HLA. J Immunol (1987)138:2481-87.
- 86.- Feinman MA, Kliman HJ, Main EK. HLA antigen expression and induction by IFN-gamma in cultured human trophoblasts. Am J Obstet Gynecol (1987)157:1429-34.
- 87.- Hill JA. Immunological mechanism of pregnancy maintenance and failure: A critique of theories and therapy. Am J Reprod Immunol (1990)22:33-42.
- 88.- Burt D, Johnston D, Riuke W, Van Den Elsen P, Stern PL. Cellular Immune Recognition of HLA-G expressing choriocarcinoma cell line JEG-3. Int J Cancer (1991)6:117-22.
- 89.- Sanders SK, Giblin PA, Kavesthas P. Cell-cell adhesion mediated by CDB and Human Histocompatibility Leukocyte Antigen G, a non classical Major Histocompatibility Complex Class I molecule on cytotrophoblast. J Exp Med (1991)74:737-40.
- 90.- Storkus WJ, Alexander J, Payne JA, Dawson JR, Cresswell P. Reversal of natural killing susceptibility in target cells expressing transfected class I HLA genes. Proc Natl Acad Sci (1989)86:2361-64.

- 91.- Kittur D, Shimizu Y, De Mars R, Edidin M. Insulin binding to human B lymphoblast is a function of HLA haplotype. Proc Natl Acad Sci (1987)84:1351-55.
- 92.- Bulner JN. Decidual cellular response. Curr Opin Immunol (1989)1:1141-47.
- 93.- King A, Wellings V, Gardner L, Loke YW. Immunocytochemical characterization of the unusual large granular lymphocytes in human endometrium throughout the menstrual cycle. Hum Immunol (1989)24:195-205.
- 94.- Strarkey PM. The Natural Killer Cell. In the natural immune system Lewis LE and O'D McGu J (Ed) Oxford University Press (1992)206-40.
- 95.- Finn CA. Implantation, menstruation and inflammation. Biol Rev (1986)61:313-28.
- 96.- Roberston SA, Mayrhofer G, Seamark RF. Uterine Epitnelial cells synthesize granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and Interleukin 6 (IL-6) in pregnant mice. Biol Reprod (1992)46:1069-79.
- 97.- Robertson SA, Brannstrom M, Seamark RF. Cytokines in rodent reproduction and cytokine-endocrine interaction. Curr Opin Immunol (1992)4:585-90.
- 98.- Wegmann TG. The role of cytokine cross-talk in preventing abortion. Res Immunol (1990)141:185-188.

- 99.- Pollard JW. Lymphohematopoietic cytokines in the female reproductive tract. *Curr Opin Immunol* (1991)3:772-77.
- 100.- Mosmann TR, Moore KW. The role of IL-10 in crossregulation of Th1 and Th2 responses. *Immunol Today* (1991)12:A49-A53.
- 101.- Howard M, O'Garra A, Ishida H, Malefyt RW. Biological Properties of Interleukin 10. *J Clin Immunol* (1992)12:239-47.
- 102.- Hunt JS. Immunobiology of pregnancy. *Curr Opin Immunol* (1992)4:591-96.
- 103.- Head JR. Rodent maternal-fetal immune interactions. *Curr Opin Immunol* (1991)3:767-71.
- 104.- Pollard JW, Bartocci A, Arceci R, Ortofsky A, Ladner MB, Stantey ER. Apparent role of the macrophage growth factor, CSF-1, in placental development. *Nature* (1987)330:484-86.
- 105.- Daiter E, Pollard JW. Colony Stimulating Factor-1 (CSF-1) in pregnancy. *Reprod Med Rev* (1991)1:83-97.
- 106.- Hill JA. Cellular Immune Mechanisms of Early Reproductive Failure. *Semin Perinatol* (1991)15:225-29.
- 107.- Wegmann TG, Lin H, Guibert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon. *Immunology Today* (1993)14:353-56.

- 108.- Silva DA, Spector TD. The role of pregnancy in the course of an aetiology of rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* (1992)11:189-93.
- 109.- Varner MW. Autoimmune disorders and pregnancy. *Semin Perinatol* (1991)15:238-43.
- 110.- Lin H, Moemann TR, Guibert L, Tuntipopipat S, Wegmann TG. Synthesis of T helper 2 type cytokines at the maternal-fetal interface. *J Immunol* (1993) 151:4562-73.
- 111.- Scott P, Kaufmann HE. The role of T cell subsets and cytokines in the regulation of infection. *Immunology Today* (1991)12:346-48.
- 112.- Artzt K, Mc Cormick P, Bennett D. Gene mapping within the T/t complex of mouse I. t lethal genes are non allelic. *Cell* (1982)28:463-70.
- 113.- Shin HS, Bennett D, Artzt K. Gene mapping within the T/t complex of the mouse. IV: The inverted MHC is intermingled with several t-lethal genes. *Cell* (1984)39:573-78.
- 114.- Kunz HW, Gill TJ III, Dixon ED, Taylor FH, Greiner DL. The growth and reproduction complex in the rat: genes linked to major histocompatibility complex which affect development. *J Exp Med* (1980)152:1506-18.
- 115.- Vardimon D, Locker J, Kunz HW, Gill TJ III. Physical mapping of the MHC and grc pulse field electrophoresis. *Immunogenetics*. *Immunogenetics* (1992) 156: 1120 - 1129.

- 116.- Christiansen OB, Riisom K, Lauritsen JG, Grunnet N, Jersild C. Association of maternal of HLA haplotypes with recurrent spontaneous abortion. Tissue Antigens (1989)34:190-199.
- 117.- Mowbray JF, Underwood JL, Gill TJ III. Familial recurrent spontaneous abortions. Am J Reprod Immunol (1991)26:17-18.
- 118.- Ho HN, Gill III TJ, Hsieh CY, Yang YS, Lee TY. The prevalence of recurrent spontaneous abortions, cancer and congenital anomalies in the families of couples with recurrent spontaneous abortions or gestational trophoblastic tumors. Am J Obstet Gynecol (1991)165:461-66.
- 119.- Mottironi VD, Hooks FB, Villey AM, Porter LH, Swift Rv, Hatcher H. Restricted HLA heterogeneity in parents of Down syndrome children. Am J Hum Genet (1985)33:132-34.
- 120.- Aymé S, Mercier P, Dalles TR, Mattie E. HLA and trisomy 21. Confirmation of trend of restricted HLA heterogeneity in parents of Down Syndrome children. Am J Hum Genet (1984)36:405-12.
121. Larizza D, Martinetti M, Lorini R, Maghnie M, Dugonjon JM, Cuccia M, Severi F. Auto immunity, HLA, GM and Km polymorphisms in Turner Syndrome Autoimmunity (1989):69-78.
- 122.- Cuccia M, Martinetti M, Larizza D, Bolis PF, Severi F. Excess of HLA parental sharing in families with Turner patients. Clin Genet (1990)38:415-421.

- 123.- Larriza D, Martinetti M, Pizzochero C, Cuccia M, Severi F. Influence of HLA genotype on birth weight of patients with Turner Syndrome. Hum Genet. (1992)88:383-87.
- 124.- Feingold J, Feingold N, Bois E. Spina Bifida and Anencephaly Geographic Correlation with the HLA System. Tissue Antigens (1980)15:318-24.
- 125.- Vannier JP, Cavelier B, Martin JP, Lefort J, Rivat L, Feingold J. HLA, Pi, GM y Km phenotypes in a spina bifida population with myelo-meningocele. Tissue Antigens (1980)15:501-04.
- 126.- Weitkamp LR, Bernice Z, Schacter Z. Transferrin and HLA: Spontaneous abortion, neural tube defects and natural selection. N Engl J Med (1985)313:925-32.
- 127.- Hedrick PW, Thomson G, Klitz W. Evolutionary genetics and HLA: another classic example. Biol J Linnean Soc (1987)31:331-32.
- 128.- Bodmer WF, Bodmer JG. Statistics and population genetics of the HLA system. In Mathematical evolutionary theory. Feldman (Ed) Princeton University Press, Princeton (1989)315-34.
- 129.- Degos L, Colombani JL, Chaventre A, Bengtsson B, Jacquard A. Selective pressure on HLA polymorphism. Nature (1974)249:62-63.

- 130.- Black FE, Salzano FL. Evidence for heterosis in HLA System Am J Hum Genet (1981)33:894-99.
- 131.- Black FL. Mother-Child HLA Compatibility Ratios in children of Amerindian parents who share common haplotypes. Am J Hum Genet (1985)37:133-37.
- 132.- Markow T, Hedrick PW, Zuerlein K, Danilovs J, Martin J, Vyvial T, Armstrong C. HLA polymorphism in the Havasupai: evidence for balancing selection. Am J Hum Genet (1993)53:943-52.
- 133.- Hedrick PW. HLA-sharing. Recurrent spontaneous abortion, and the genetics hypothesis. Genetics. (1988)119:199-204.
- 134.- Hedrick PW, Thomson G. Maternal-Fetal interactions and maintenance of HLA polymorphism. Genetics (1988)119:205-12.
- 135.- Hedrick PW. Evolution at HLA: Possible explanations for the deficiency of homozygotes in two populations. Hum Hered (1990)40:213-20.
- 136.- Singh PB, Brown RE, Roser B. MHC antigens in urine as olfactory recognition clues. Nature (1987)327:161-64.
- 137.- Potts WK, Manning CJ, Wakeland EK. Mating patterns in seminatural populations of mice influenced by MHC genotype. Nature (1991)352:619-21.

- 138.- Potts WK, Wakeland ER. Evolution of MHC genetics diversity: a tale of incest, pestilence and sexual preference. *Trends Genet* (1993)9:408-12.
- 139.- Terasaki PI, Mc Clelland JD. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* (1964)204:998-1004.
- 140.- Terasaki PI, Bernoco D, Park MS, Azturk G, Iwaki Y. Microdroplet testing for HLA-A, -B, -C and -D antigens, the Philip Levine Award Lecture. *Am J Clin Pathol* (1978)69:103-10.
- 141.- Boyum A. Isolation of leukocytes from human blood: father observations. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* (1968)97:31-39.
- 142.- Bodmer JG, Pickboun P, Richards S. Serology in: Bobmer WF, Batcheler JR, Bodmer JG, Festenstein H, Morris PJ (Ed). *Histocompatibility testing 1977*, Munksgaard, Copennagen Denmark (1978) 612-17.
- 143.- Eroglu G., Betz G., Torregano C. Impact of histocompatibility antigens on pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* (1992) 166:1364-69.
- 144.- Belich M., Madrigal A., Hidebrand W., Zemmour J., Parham P. Unusual HLA-B alleles in two tribes of Brazilian Indians. *Nature* (1992) 357: 326-29.
- 145.- Watkins D., McAdam S., Liu X., Strang C., Milford E., Levine C., Letvin N. New recombinant HLA-B alleles in a tribe of South American Ameridians indicate rapid evolution of MHC I loci. *Nature* (1992) 357:329-32.
- 146.- Steck T., Clark DA. Histocompatibility studies in recurrent spontaneous abortion. *Hum Reprod* (1994) 9:1195-97.

X. TABLAS Y FIGURAS.

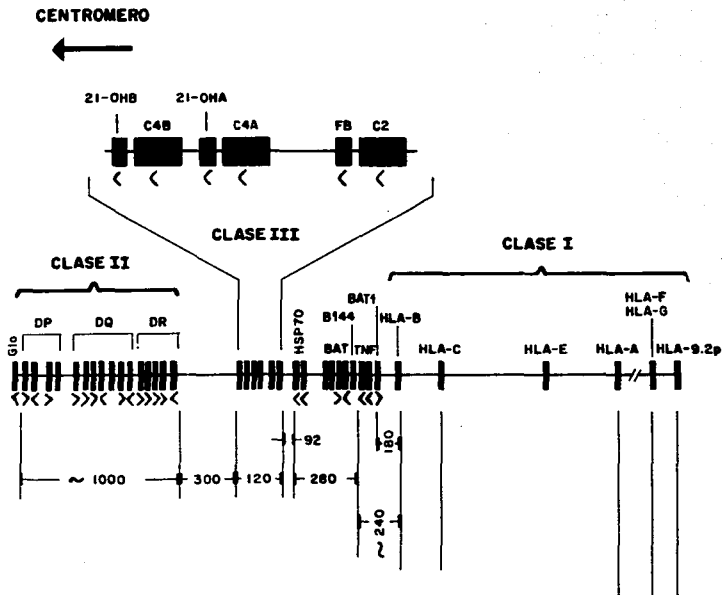


FIGURA 1.- Mapa Genético del Sistema Principal de Histocompatibilidad (SPH) en el cromosoma 6 humano (6p21.3).

TABLA 1. TIPIFICACION DE PAREJAS ABORTADORAS PRIMARIAS

No. PAREJA	No. ABORTOS	SEXO	HAPLOTIPOS			ANTIGENOS COMPART.
			A	B	DR	
1	3	F	2, 3	12, 14	2, 8	3
		M	2, 25	12, 14	4	
2	2	F	9,11	8, 35	4	0
		M	1,28	13	7	
3	3	F	2	5, 40	2, 7	3
		M	2,26	5, 27	2, 8	
4	3	F	9,26	15, 40	2	2
		M	2,9	5, 40	3, 4	
5	3	F	2, 26	12, 35	3, 7	2
		M	9, 26	35, 40	2	
6	5	F	2, 25	5, 15	1	3
		M	2, 9	5, 21	1	
7	7	F	9, 28	5, 35	4	3
		M	9	35, 40	4, 7	
8	3	F	1, 26	7, 8	7	2
		M	1, 32	8, 49	1	
9	3	F	2	5, 35	4	1
		M	9, 26	5, 8	6	
10	3	F	9, 25	7, 35	4, 6	1
		M	3, 28	27, 35	2, 8	
11	3	F	2, 11	5	3, 4	2
		M	2, 25	5, 12		
12	3	F	9, 28	5, 40	3, 4	3
		M	2, 9	15, 40	1, 4	
13	5	F	1, 2	5, 13	3, 4	1
		M	11,26	13, 21	7	
14	4	F	2, 25	5, 35	4	0
		M	1, 9	8, 44	7, 8	
15	3	F	9, 28	15, 35	7	1
		M	25,28	14, 17	1, 4	
16	5	F	2, 9	12, 14	1, 7	2
		M	2,3	12, 40	3, 6	

No. PAREJA	No. ABORTOS	SEXO	HAPLOTIPOS		ANTIGENOS	
			A	B	DR	COMPART.
17	2	F	2, 9	5, 21	7	2
		M	2, 11	5, 27	3	
18	2	F	2,11	12, 53	8	2
		M	2,25	5, 40	3, 8	
19	2	F	2,11	35		1
		M	2,9	21, 44	6, 8	
20	2	F	2,3	35, 60	7, 10	1
		M	1,2	35, 44	11	
21	3	F	2, 30	5, 12	4	1
		M	24, 28	12, 63	2, 3	
22	5	F	2, 9	5, 8	1, 5	3
		M	2, 26	15, 35	1, 5	
23	2	F	3, 25	5, 14	1, 5	0
		M	2, 26	8, 35	N, T	
24	3	F	2, 9	8, 17	1, 5	1
		M	26, 30	12, 35	2, 5	
25	3	F	2, 24	48, 51	2, 5	2
		M	23	27, 35	5, 8	
26	5	F	2, 33	44, 56	4, 10	2
		M	1, 30	44, 14	3, 4	
27	2	F	2, 28	35, 49	2, 3	2
		M	2, 23	5, 22	2, 7	
28	3	F	2, 25	35,	4, 11(5)	2
		M	2,	8, 40	7, 12(5)	
29	3	F	2, 30	39, 35	1, 8	2
		M	2, 24	35, 44	3	
30	3	F	28, 30	35, 49	4, 5	1
		M	2, 24	12, 14	2, 5	
31	5	F	2, 30	35, 52	1, 4	3
		M	2, 26	35, 16	1, 7	
32	3	F	2, 26	39, 41	4, 5	2
		M	2, 24	35, 45	4, 9	

No. PAREJA	No. ABORTOS	SEXO	HAPLOTIPOS			ANTIGENOS COMPART.
			A	B	DR	
33	2	F	2, 26	35, 60	4, 8	1
		M	2, 24	51, 62	2, 10	
34	5	F	2,30	51, 27	4, 8	1
		M	24,28	12, 35	2, 4	
35	3	F	2,3	44, 35	2, 4	2
		M	2,30	42, 49	4, 5	
36	3	F	1,2	8, 60	3, 7	1
		M	2,30	16, 35	4, 5	
37	4	F	26, 33	16, 35	2, 6	2
		M	2, 26	14, 16	1, 10	
38	2	F	2, 11	15, 17	4, 5	2
		M	2, 24	51, 38	5, 9	
39	3	F	24, 30	35, 51	4, 5	3
		M	2, 24	35, 40	1, 10	
40	3	F	28, 30	64, 44	4, 7	1
		M	2, 30	51, 38	3, 5	
41	5	F	26,28	8, 51	4, 8	0
		M	2	38, 40	3, 7	
42	5	F	23, 30	35, 40	3, 10	1
		M	2	18, 35	2, 4	
43	3	F	24, 30	51, 12	7, 9	2
		M	26	40, 12	7, 8	
44	2	F	2, 24	16, 35	4, 5	3
		M	24, 30	35, 60	2, 4	
45	3	F	2, 30	40, 51	2, 4	2
		M	24,31	40, 65	4, 8	
46	5	F	2, 24	39, 44	7, 10	1
		M	2, 30	51, 64	1, 4	
47	2	F	2, 24	35, 39	4, 6	3
		M	2, 24	39, 60	1, 2	
48	3	F	2, 28	48, 51	4, 7	2
		M	2, 29	44, 35	3, 4	

No. PAREJA	No. ABORTOS	SEXO	HAPLOTIPOS		DR	ANTIGENOS COMPART.
			A	B		
49	3	F	2, 30	15, 44	3, 5	2
		M	2, 28	15, 16	4	
50	3	F	2, 24	35, 39	4, 5	1
		M	11, 24	13, 60	2, 3	
51	2	F	1, 24	8, 52	2, 5	2
		M	2, 24	35, 40	2, 4	

TABLA 2. TIPIFICACION DE PAREJAS ABORTADORAS SECUNDARIAS

No. PAREJA	No. HIJOS	No. ABORTOS	SEXO	HAPLOTIPOS			ANTIGENOS COMPART.
				A	B	DR	
1	1	3	F	2, 32	15, 40	7	1
			M	9	44	7	
2	1	2	F	1, 9	5, 12	4	0
			M	2, 11	35, 40	2	
3	1	2	F	2, 25	5, 8	5, 8	1
			M	2, 9	13, 21	2	
4	1	6	F	28, 11	7, 49	2, 8	1
			M	28	8, 21	3	
5	1	2	F	9	7, 15	2	0
			M	2, 26	5, 35	4	
6	2	3	F	2, 25	5, 12	3	2
			M	2	5, 7	8	
7	2	3	F	28	7, 35	2, 8	0
			M	9, 26	5, 8	4	

TABLA 3. TIPIFICACION DE PAREJAS CONTROLES

No. PAREJA	NUMERO DE HIJOS	SEXO	HAPLOTIPOS			ANTIGENOS COMPART.
			A	B	DR	
1	2	F	3, 9	14, 15	2	0
		M	2, 10	40	1, 4	
2	3	F	28, 25	18	2, 3	0
		M	2	8, 35	5	
3	2	F	2, 10	17	2, 5	1
		M	1, 28	5, 35	2	
4	3	F	9, 26	18, 21	7, 8	1
		M	2, 11	5, 12	4, 8	
5	3	F	2, 9	17, 53	2	1
		M	2, 10	27, 35	3, 4	
6	2	F	10	5, 22	7	0
		M	1, 3	18, 47	5	
7	3	F	2	8, 21	4, 6	1
		M	3, 9	8, 35	1	
8	3	F	3, 9	14	2, 8	0
		M	26	12, 35	3, 4	
9	3	F	9, 32	8, 27	1, 7	0
		M	11, 26	7, 49	2, 5	
10	2	F	9, 30	18, 21	3, 5	0
		M	1, 2	5, 35	4, 8	
11	2	F	2, 26	5, 40	4, 5	0
		M	11	35, 49	7	
12	4	F	2, 10	21, 53	3, 4	1
		M	2	5, 35	2	
13	4	F	2	15	5	0
		M	9	5, 17	3, 6	
14	2	F	2, 28	8, 15	2	0
		M	9, 26	21, 40	4	
15	6	F	9	15, 52	4	0
		M	2	5, 27	7	
16	2	F	2, 26	21, 37	7, 8	0
		M	3, 11	5	2	

No. PAREJA	NUMERO DE HIJOS	SEXO	HAPLOTIPOS			ANTIGENOS COMPART.
			A	B	DR	
17	2	F	2,9	5, 40	4	1
		M	2, 25	7, 35	6	
18	2	F	1, 2	5, 8	2	1
		M	2, 31	18	4	
19	8	F	2	5	4	0
		M	1,26	7, 51	1, 3	
20	6	F	2,9	5, 12	7, 17	0
		M	25,30	7, 40	7	
21	2	F	2, 28	5, 35	1	1
		M	2, 26	17, 40	4, 8	
22	4	F	26	7, 44	2, 7	0
		M	2, 9	35	4	
23	3	F	2	7, 35	7	0
		M	9, 28	15	1, 5	
24	5	F	9, 28	7, 8	3, 4	0
		M	2, 9	5	N.T.	
25	3	F	9, 25	12, 15	6	0
		M	28	7, 35	7	
26	2	F	2, 9	5, 13	7	1
		M	9, 29	12	4	
27	7	F	2	8	5, 7	0
		M	9	5, 21	3	
28	5	F	2, 24	35	4	0
		M	9, 25	7, 18	1	
29	2	F	2, 26	35	4	1
		M	2, 9	5, 27	6	
30	7	F	26	27	4, 5	0
		M	2,9	5	8	
31	2	F	2	21, 35	3	0
		M	9	7, 49	4	
32	4	F	28	35	7	0
		M	2,24	15	4	

TABLA 4. ANTIGENOS HLA COMPARTIDOS EN LAS ABORTADORAS PRIMARIAS, SECUNDARIAS Y GRUPO CONTROL.

ANTIGENOS COMPARTIDOS	ABORTADORAS PRIMARIAS (N=51)	ABORTADORAS SECUNDARIAS (N=7)	CONTROLES (N=32)
HLA- A			
0	15 (29%) *	4 (57%) N.S.	23 (72%)
1	36 (70%) *	3 (42%) N.S.	9 (28%)
2	---	---	---
HLA- B			
0	24 (47%) *	7 (100%) N.S.	31 (97%)
1	26 (51%) *	---	1 (3%)
2	1 (2%) N.S.	---	---
HLA- DR			
0	28 (55%) N.S.	6 (85%) N.S.	32 (100%)
1	22 (43%) *	1 (14%) N.S.	---
2	1 (2%) N.S.	---	---

* P < 0.001 (GPO. CONTROL VS. ABORTADORAS PRIMARIAS).

N.S.- NO SIGNIFICATIVO

TABLA 5. FRECUENCIAS FENOTIPICAS (FF) DEL LOCUS HLA-A EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS.

ABORTADORAS PRIMARIAS
(N=51 PAREJAS)

ABORTADORAS SECUNDARIAS
(N=7 PAREJAS)

CONTROLES
(N=32 PAREJAS)

HLA	ABORTADORAS PRIMARIAS			ABORTADORAS SECUNDARIAS			CONTROLES		
	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff
A1	7.8	11.7	9.8	14.2	---	7.1	3.1	12.5	7.8
A2	68.6	62.7	65.6	42.8	57.1	50.0	59.3	46.8	53.1
A3	7.8	3.9	5.8	---	---	---	6.2	9.3	7.8
A9	37.2	43.1	40.2	28.5	42.8	37.5	37.5	37.5	37.5
A11	9.8	5.8	7.8	14.2	14.2	14.2	---	12.5	6.2
A25	9.8	9.8	9.8	28.5	---	14.2	6.2	9.3	7.8
A26	13.7	19.6	16.6	---	28.5	14.2	18.7	15.6	17.1
A28	9.8	3.9	6.9	---	---	---	---	---	---
A29	---	2.0	1.0	---	---	---	---	---	---
A30	21.5	13.7	17.6*	---	---	---	3.1	3.1	3.1*
A31	---	2.0	1.0	---	---	---	---	---	---
A32	---	2.0	1.0	14.2	---	7.1	3.1	---	1.5
A33	3.9	3.9	3.9	---	---	---	---	---	---

P < 0.01 AL COMPARAR ff ENTRE GRUPO AP vs GC

TABLA 6. FRECUENCIAS FENOTIPICAS (ff) DEL LOCUS HLA-B EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS.

ABORTADORAS PRIMARIAS
(N=51 PAREJAS)

ABORTADORAS SECUNDARIAS
(N=7 PAREJAS)

CONTROLES
(N=32 PAREJAS)

HLA	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff
B5	41.1	21.5	31.4	42.8	42.8	42.8	25.0	34.3	29.6
B7	3.9	---	1.9*	42.8	14.2	28.5	9.3	21.8	15.6*
B8	13.7	3.9	8.8	14.2	28.5	21.4	18.7	6.2	12.5
B12	23.5	23.5	23.5*	28.5	---	14.2	9.3	9.3	9.3*
B13	1.9	5.8	3.9	---	14.2	7.1	3.1	---	1.5
B14	7.8	13.7	10.7	---	---	---	6.2	---	3.1
B15	7.8	7.8	7.8	28.5	---	14.2	15.6	6.2	10.9
B16	13.7	15.7	14.7	---	---	---	---	---	---
B17	3.9	1.9	2.9	---	---	---	6.2	6.2	6.2
B18	---	1.9	0.98	---	---	---	---	---	---
B21	5.8	9.8	7.8	---	28.5	14.2	18.7	6.2	12.5
B22	1.9	---	0.98	---	---	---	---	---	---
B27	1.9	1.9	1.9	---	---	---	---	---	---
B35	43.1	35.3	39.2*	14.2	28.5	21.4	18.7	34.3	26.5*
B40	15.7	31.3	23.5	14.2	14.2	14.2	6.2	12.5	9.3
B41	1.9	---	0.98*	---	---	---	---	---	---
B42	---	1.9	0.98	---	---	---	---	---	---
B48	3.9	---	1.9	---	---	---	---	---	---

* P < 0.01 AL COMPARAR ff ENTRE GRUPO AP vs GC

TABLA 7. FRECUENCIAS FENOTIPICAS (ff) DEL LOCUS HLA-DR EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS.

HLA	ABORTADORAS PRIMARIAS (N=51 PAREJAS)			ABORTADORAS SECUNDARIAS (N=7 PAREJAS)			CONTROLES (N=32 PAREJAS)		
	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff	MUJER ff	HOMBRE ff	TOTAL ff
DR1	13.7	17.6	15.6	---	---	---	6.2	15.6	10.9
DR2	17.6	27.4	22.5	42.8	28.5	37.5	21.8	9.3	15.6
DR3	13.7	23.5	18.6	14.2	28.5	21.4	15.6	15.6	15.6
DR4	49.0	35.8	42.1	14.2	28.5	21.4	31.2	40.6	35.9
DR5	25.4	19.6	22.5	14.2	---	7.1	18.7	12.5	15.6
DR6	5.8	5.8	5.8	---	---	---	6.2	9.3	7.8
DR7	23.5	15.6	19.6	14.2	14.2	14.2	31.2*	9.3	20.3
DR8	11.7	15.6	13.6	42.8	14.2	28.5	9.3	12.5	10.9
DR9	1.9	3.9	2.9	---	---	---	---	---	---
DR10	7.8	5.8	6.8	---	---	---	---	---	---

* P < 0.05 AL COMPARAR ff ENTRE MUJER vs HOMBRE EN EL GRUPO CONTROL