

63
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

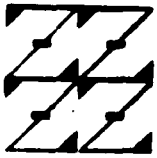
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

FALLA DE ORIGEN

**TITULO DEL PROYECTO : ANTIGENOS LEUCOCITARIOS DEL
HUMANO (HLA) ASOCIADOS A
NEOPLASIA TROFOBlastICA
GESTACIONAL (NTG)**



T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
FERNANDO VIDAL SAUCEDO



LO HUMANO
ES
DE NUESTRA REFLEXION

ASESOR EXTERNO : QBP. MA. DE LOS DOLORES DELGADO OCHOA
ASESOR INTERNO : DR. RUBEN MARROQUIN SEGURA

MEXICO, D. F., SEPTIEMBRE DE 1995



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Este trabajo, se realizó en el Hospital Juárez de México de la Secretaría de Salud, en la División de Investigación y Enseñanza en el Laboratorio de Histocompatibilidad bajo la dirección de la Q.B.P. Ma. de los Dolores Delgado Ochoa

AGRADECIMIENTOS

**A la Q.B.P. Ma. De Los Dolores
Delgado Ochoa por el gran apoyo
y confianza para la dirección
de está tesis.**

A los miembros del jurado:

Dr. Ruben	Marroquín	Segura
Q.B.P. Gustavo	Miranda	Contreras
Q.F.B. Ma. De Las Mercedes	Zamudio D.	
Q.F.B. Yolanda	Flores	Cabrera
Q.F.B. Angel	Barajas	Chavarría

**Por sus comentarios y consejos en la
revisión de este trabajo.**

DEDICATORIAS

**A mis padres:
con respeto y cariño por
el apoyo brindado.**

**A mis hermanos y sobrinos
con cariño.**

**A mis amigos y compañeros
por su tiempo compartido.**

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
EL TROFOBLASTO	5
LA NEOPLASIA TROFOBLASTICA GESTACIONAL	9
SINTOMAS DE LA NEOPLASIA TROFOBLASTICA GESTACIONAL	18
DIAGNOSTICO DE LA NEOPLASIA TROFOBLASTICA GESTACIONAL	18
EL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD	21
ESTRUCTURA Y FUNCION DE LAS MOLECULAS HLA	24
HLA Y ENFERMEDAD	27
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	31
OBJETIVOS	31
HIPOTESIS DE TRABAJO	32
MATERIAL Y METODO	33
DISEÑO ESTADISTICO	41
RESULTADOS Y DISCUSION	42
CONCLUSIONES	56
REFERENCIAS	58

RESUMEN

La Neoplasia Trofoblástica Gestacional (NTG) esta constituida por una serie de alteraciones de las células trofoblásticas de la placenta humana y que en si mismo, son cambios que predisponen a tumores. La NTG se ha estudiado relativamente poco, la mayoría de las investigaciones realizadas en las últimas cuatro décadas ayudaron a definir la distribución geográfica de la enfermedad, así como algunos factores de riesgo. La incidencia en México varia de 1 en 144 a 625 embarazos. No se conoce la verdadera causa de la neoplasia, pero se presenta de preferencia en mujeres menores de 18 años ó mayores de 40 años.

Tomando en cuenta que los indices de natalidad en nuestro país son elevados, esto, aunado a la escasa investigación que se a realizado sobre la NTG, son dos factores importantes que llevaron a realizar un estudio encaminado a identificar la frecuencia del HLA Clase I en parejas que presentan la NTG, con la finalidad de encontrar un marcador genético que nos pueda ayudar en el diagnóstico de la enfermedad.

Se estudiaron mediante la técnica de microlinfotoxicidad, muestras de sangre periférica de 30 mujeres y 22 hombres, relacionados con NTG ; así como de grupos control formados por 50 mujeres y 50 hombres sin relación con la NTG.

Para la población femenina estudiada, los HLA que tienen mayor Riesgo Relativo (R.R) hacia NTG, fueron los siguientes: HLA-A10: R.R= 5.4, HLA-A11: R.R= 2.66, HLA-B12: R.R= 2.73, HLA-B7: R.R= 2.66 y HLA-14: R.R= 2.41. Para el caso de la población masculina estudiada los HLA con mayor R.R hacia NTG, fueron los siguientes: HLA-A11: R.R= 4.9, HLA-A25: R.R= 2.33, HLA-B18: R.R= 3.0,

HLA-Bw42: R.R= 2.33 y HLA-B17: R.R= 2.3. Aunque algunos antígenos muestran R.R. altos no podemos relacionarlos con NTG, debido a que el número de pacientes que lo presentaron es muy reducido (de 1 a 3), lo que sugiere que los resultados son estadísticamente no significativos.

No se encontró evidencia suficiente para establecer que existan antígenos HLA Clase I relacionados con la NTG.

INTRODUCCION

El trofoblasto es un tejido único, que se origina a partir de la masa celular exterior del embrión antes de la implantación. Se puede describir como el primer órgano encargado de la fijación física en el endometrio y de la secreción de gonadotropina coriónica (HCG) suficiente para detener la menstruación y perpetuar el embarazo.¹

La Neoplasia Trofoblástica Gestacional (NTG) está constituida por una serie de alteraciones de las células trofoblásticas de la placenta humana y que en sí mismo, son cambios que predisponen a tumores.

La Neoplasia Trofoblástica Gestacional fué reconocida desde la antigüedad y con frecuencia mal entendida. En el año 400 AC., Hipócrates fue el primero en describir la mola hidatidiforme como hidropesía del útero. En el año 600 DC., Aetius de Arida fue quien acuñó el término de "hidatide" ya que observó el parecido de las vesículas formadas en la NTG con grandes gotas de agua, el término "hidatide" se deriva de la palabra griega hydatis, que significa gota.¹⁻⁴

La comprensión realista de la NTG se inició cuando pudo llegarse a la verdad tanto sobre la naturaleza epitelial del trofoblasto, como sobre, la relación de éste con las neoplasias gestacionales.

Recientemente se ha comprobado que algunas enfermedades guardan estrecha relación con los Antígenos Leucocitarios del

Humano (HLA). Las enfermedades asociadas con estos antígenos tienen diversas características, en general, son de causa y mecanismo fisiológicos desconocidos, con un patrón hereditario determinado en cuanto a su distribución; están asociadas con anormalidades inaurológicas. La NTG cumple con algunas de estas características, lo que hace suponer que presenta asociación con algún marcador genético HLA. 5-8

EL TROFOBLASTO

El desarrollo de un nuevo individuo comienza con la fecundación. Donde se une el óvulo y el espermatozoide para dar origen a un huevo o cigoto, por lo general, ocurre en la porción media de la trompa de Falopio, el espermatozoide penetra en la zona pelúcida, una estructura membranosa que rodea al óvulo. La penetración es ayudada por la acrosina, una enzima del acrosoma similar a la tripsina. Las membranas del óvulo y de la cabeza del espermatozoide se fusionan y la división celular comienza de inmediato. Los principales resultados de la fecundación son: 1) restablecimiento del número diploide de cromosomas, la mitad procedentes del padre y la mitad de la madre. 2) Determinación del sexo del nuevo individuo. 3) Iniciación de la segmentación.^{9, 10}

Cuando el cigoto ha llegado al período bicelular experimenta una serie de divisiones mitóticas. Estas células, que se tornan más pequeñas con cada división de segmentación, se denominan blastómeras. Luego de tres o cuatro divisiones el cigoto recibe el nombre de mórula. En este momento (período de 12 a 16 células) la mórula está formada por un grupo de células centrales, la masa celular interna, y una capa circundante, la masa celular externa. La masa interna origina los tejidos del embrión, la masa externa forma el trofoblasto, que más tarde se convertirá en la placenta. (Ver fig.1). El embrión en desarrollo, llamado ahora blastocisto baja por la trompa de Falopio, y penetra en el útero.

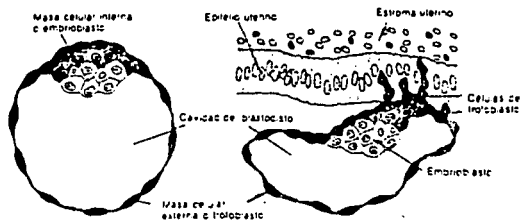


FIGURA 1. REPRESENTACION ESQUEMATICA DE UN BLASTOCISTO

Tomada del Langman(9)

Las células de la masa interna, en esta fase llamadas embrioblasto, están situadas en un polo, y las de la masa celular externa, o llamada trofoblasto, se aplanan y forman la pared epitelial del blastocisto.⁹

En el ser humano, las células trofoblásticas sobre el polo del embrioblasto comienzan a introducirse entre las células epiteliales de la mucosa uterina aproximadamente en el sexto día.

La pared del útero está formada por tres capas: 1) el endometrio o mucosa que reviste el interior de la pared; 2) el miometrio, una capa gruesa de músculo liso; y 3) el perimetrio, el revestimiento peritoneal que cubre la porción externa de la pared.⁹

En el octavo día de desarrollo el blastocisto está parcialmente incluido en el estroma endometrial. En la zona situada sobre el embrioblasto, el trofoblasto se ha diferenciado en dos capas: una capa interna de células mononucleadas, el citotrofoblasto, y una zona externa multinucleada sin límites celulares netos, el sinciotrofoblasto o sincicio. El embrioblasto también se diferencia en dos capas: una de células cubicas pequeñas, la capa hipoblástica; y una capa de células cilíndricas altas, la capa epiblastica, los cuales, unidos, forman el disco germinativo bilaminar, en el interior del epiblasto aparece una pequeña cavidad, que se agranda para convertirse en la cavidad amniótica (fig.2).⁹

El blastocisto se introduce más profundamente en el endometrio, en el sincicio del trofoblasto aparecen vacuolas aisladas, que al fusionarse forman grandes lagunas que forman una red intercomunicada, por lo cual esta fase del desarrollo del trofoblasto se denomina período lacunar. Al proseguir la invasión del endometrio, los vasos sanguíneos maternos son perforados y las vacuolas se llenan de sangre materna estableciéndose la circulación uteroplacentaria. Al unirse las lagunas forman un complicado laberinto con particiones de columnas trofoblásticas sólidas que comienzan a formar vellosidades que se diferenciarán en células sanguíneas y en vasos sanguíneos de pequeño calibre, formando el sistema capilar vellosa. Estos vasos, a su vez, establecen contacto con el sistema circulatorio intraembrionario, conectando así la placenta y el embrión.⁹⁻¹²

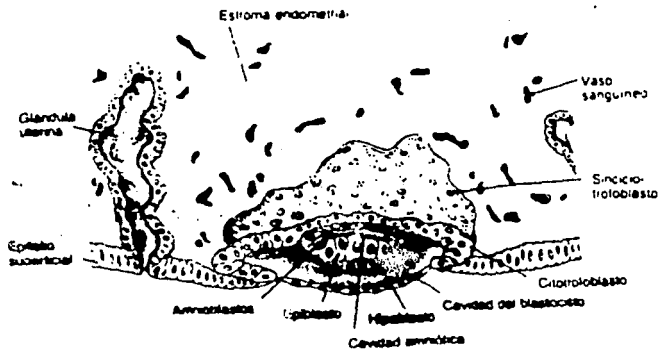


FIGURA 2. Esquema de un blastocisto humano. El trofoblasto está formado por una capa interna de células mononucleares, el citotrofoblasto, y una capa externa sin límites celulares definidos, el sinciotrofoblasto. El embrioblasto está formado por las hojas germinativas epiblastica e hipoblastica. Se advierte la cavidad amniótica en forma de pequeña hendidura.

Tomada del Langan (9)

NEOPLASIA TROFOBlastICA GESTACIONAL

La Neoplasia Trofoblástica Gestacional (NTG) está constituida por alteraciones de las células trofoblásticas de la placenta humana y que en sí mismo, son cambios que predisponen a tumores. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), deben emplearse los términos que siguen cuando se clasifiquen y determinen las etapas de la NTG. El término NTG se refiere a las alteraciones tanto benignas como malignas de estos aloinjertos trofoblásticos proliferativos, las cuales se clasifican como: Mola Hidatidiforme, Mola Invasora, Coriocarcinoma y Tumor Trofoblástico del sitio de implantación de la placenta.^{1,2,4,13}

Mola Hidatidiforme es un término general para dos distintas entidades. El término mola hidatidiforme completa se refiere a una concepción sin un embrión o feto, caracterizada por una excesiva multiplicación de células, al parecer distribuida al azar, tanto de citotrofoblasto como de sinciotrofoblasto; edema veloso generalizado que progresa con rapidez hasta la formación de cisternas centrales, causante del aspecto macroscópico de múltiples vesículas que dan la impresión de "racimo de uvas" (fig. 1.). Esta condición se origina de la fertilización de un óvulo anormal por un sólo espermatozoide haploide 23,X (Tabla 1 y Fig.2a). El huevo pierde su componente haploide materno de 23,X, por un mecanismo aún no definido y experimenta una fecundación al parecer normal por un sólo espermatozoide, desarrollándose posteriormente. El juego haploide paterno de cromosomas 23,X se duplica sin citosinesis

simultánea y por medio de este mecanismo se establece el número de 46 cromosomas, todos ellos de origen paterno. Sólo tendrán éxito para que ocurra así los espermatozoides que llevan el cromosoma X. El cariotipo resultante será 46,XX, en tanto los grupos diploides paternos que llevan el cromosoma Y, producirán cigotos 46,YY no viables. Este mecanismo es responsable de más del 90% de casos de mola hidatidiforme completa. Un subgrupo de la mola hidatidiforme completa resulta por fecundación de un "óvulo vacío" por dos espermatozoides (dispermeia) que llevan los cromosomas X y Y o X y X (Tabla 1 y fig.2b). Esto ocurre en el 4% al 8% de los casos. 1,2,4,13

El término mola hidatidiforme parcial se refiere a una concepción con persistencia embrionaria o elementos fetales y una placenta caracterizada por distribución focal de cambios vellosos hidatidiformes que culminan en formación lenta de cisternas y por hiperplasia trofoblástica focal por lo general de grado ligero y confinada al sincicio. La mola hidatidiforme parcial es producto de una fecundación un poco semejante a la que se observa en casos de molas completas heterocigotas (Tabla 1 y fig.3). En este caso el huevo al parecer normal, con un juego haploide 23,X intacto, queda fecundado por dos espermatozoides y el cariotipo resultante manifiesta 69 cromosomas, se producen las tres posibles configuraciones cromosómicas sexuales, XXX, XXY, XYY, sin embargo la proporción esperada de 1:2:1 se modifica a la de 2:3 para las molas XXX:XXY y solo excepcionalmente se encuentran molas XYY. 1,2,13

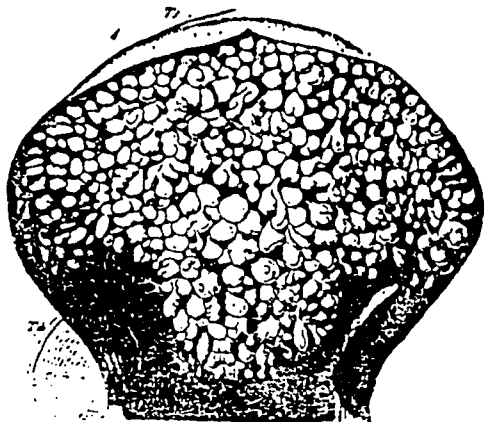
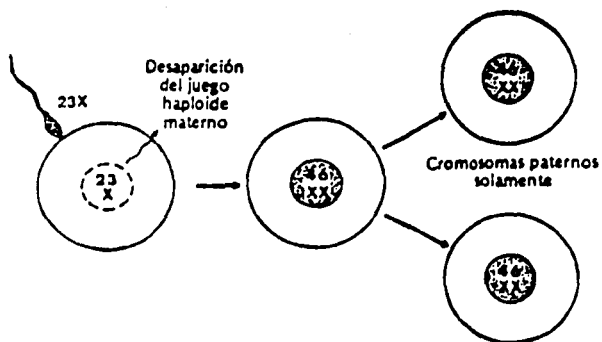
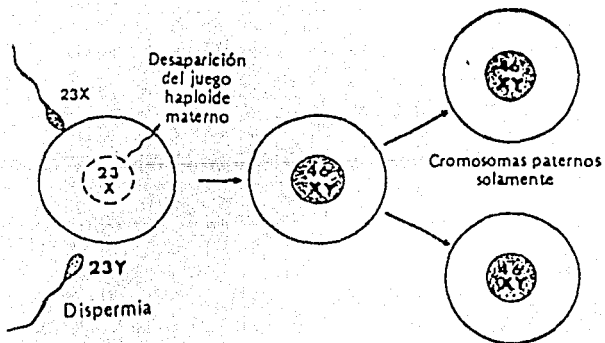


FIGURA No. 1. ASPECTO MACROSCOPICO DE UNA MOLA INVASIVA
Tomada del Hammond (1)

FIGURA 2. ESQUEMA QUE ILUSTRAS EL ORIGEN DE LA MOLA COMPLETA

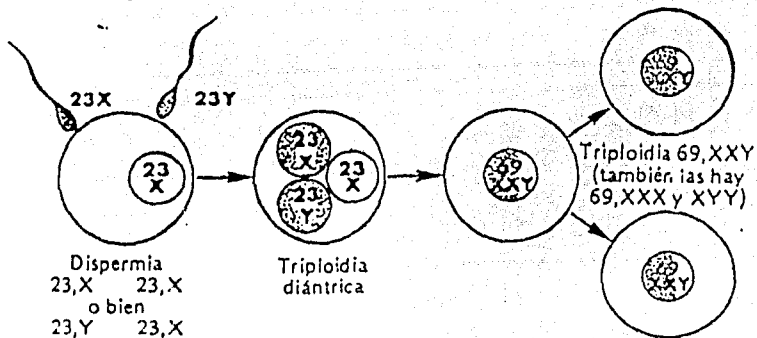


1a.



1b.

FIGURA 3. ESQUEMA EN EL QUE SE MUESTRA EL ORIGEN MAS COMUN DE LA MOLA PARCIAL



Tomada del Hammond (1)

TABLA 1. CONSTITUCION GENETICA DE UN EMBARAZO NORMAL Y UN MOLAR

PRODUCTO	CONSTITUCION GENETICA	CONTRIBUCION MATERNAL (JUEGO HAPLOIDE)	CONTRIBUCION PATERNAL (JUEGO HAPLOIDE)
NORMAL	46,XY ó 46,XX	1	1
MOLA PARCIAL TETRAPLOIDE	92,XXXX ó 92,XXXY	1	3
MOLA PARCIAL TRIPLOIDE	69,XXX , 69,XXY ó 69,XXY	1	2
MOLA COMPLETA TETRAPLOIDE	92,XXXX	0	4
MOLA COMPLETA TRIPLOIDE	69,XXX	0	3
MOLA COMPLETA DIPLOIDE	46,XX ó 46,XY	0	2

Tomada de Szulman (2)

La mola invasora, es una mola hidatidiforme que ha invadido el miometrio, ha dado metástasis, o ambas cosas. Progresa a menudo, pero suele experimentar regresión espontánea.¹

El coriocarcinoma es una neoplasia maligna de elementos ciclotrofoblasticos sin formación de vellosidades. Suele progresar, dar metástasis y es mortal si no se trata a tiempo.¹

El tumor del sitio de implantación de la placenta esta compuesto principalmente por células intermediarias ciclotrofoblasticas, este tumor también puede progresar, invadir, dar metástasis y producir la muerte de la paciente.¹

La mola hidatidiforme precede a la enfermedad maligna (mola invasora, coriocarcinoma y tumor del sitio de implantación de la placenta), aproximadamente en el 50% de las pacientes. Una de cada 150 mujeres con mola hidatidiforme ha tenido por lo menos dos embarazos molares consecutivos.^{1,2}

La NTG se ha estudiado relativamente poco, la mayoría de las investigaciones realizadas en las últimas cuatro décadas ayudaron a definir la distribución geográfica de la enfermedad (Tabla No.2) así como algunos factores de riesgo. La incidencia de la NTG varía de ciudad en ciudad, de cualquier modo, si es notable la gran frecuencia en naciones en vías de desarrollo. La incidencia en México varía de 1 en 144 a 625 embarazos⁹. No se conoce la verdadera causa de la NTG, pero esta lesión se presenta de preferencia en mujeres de menos de 18 años o de más de 40 años (Tabla No. 3). Los factores alimentarios pueden tener un efecto

TABLA 2. INCIDENCIA DE MOLA HIDATIDIFORME Y CORIOCARCINOMA

INCIDENCIA ESTIMADA (POR 100 000)		
CIUDAD	MOLA HIDATIDIFORME	CORIOCARCINOMA
ESTADOS UNIDOS	66.1	2.2
JAPON	214.6	12.1
SUECIA	64.8	3.9
ISRAEL	75.0	5.1
SINGAPUR (Malasio)	113.0	8.8
MALASIA	136.5	12.5
SINGAPUR (Chinos)	123.4	12.1
PARAGUAY	22.8	2.3
GRONLANDIA	117.6	35.0

Tomada del Szulean (2)

TABLA 3. RIESGO DE MOLA HIDATIDIFORME SEGUN EDAD MATERNAL

CIUDAD	EDAD-RIESGO RELATIVO ESPECIFICO POR EDAD						
	< 20	20-24	25-29	30-34	35-39	40-44	> 45
GROELANDIA	3.15	0.84	1.0	0.63	1.30	2.40	15.77
CHINA	0.57	0.63	1.0	0.72	0.98	3.83	22.14
PARAGUAY	2.69	1.13	1.0	0.98	0.89	1.94	6.87
MALASIA	1.14	1.04	1.0	1.04	1.12	2.21	12.50
SINGAPUR	3.29	1.30	1.0	0.84	0.83	1.65	14.36
JAPON	1.12	1.18	1.0	0.77	1.18	2.43	38.91
SUECIA	1.14	1.01	1.0	0.84	1.10	2.12	27.95
ISRAEL	1.83	1.33	1.0	1.17	1.67	5.33	18.85
TAIWAN	0.87	1.03	1.0	0.85	0.82	1.81	10.60
MEXICO	1.02	1.05	1.0	0.84	0.85	2.73	15.46
UGANDA	0.80	0.90	1.0	1.48	2.67	7.08	41.26
REINO UNIDO	0.99	0.99	1.0	1.01	1.13	2.28	42.91

Tomada del Szulman (2)

sobre la incidencia de la mola hidatidiforme, se ha sugerido que una deficiencia de las grasas animales y del caroteno, vitamina liposoluble, pueden contribuir a la enfermedad.^{2,4,14}

SINTOMAS DE LA NTG

- Retraso menstrual durante varios periodos por lo que se considera que muchas pacientes estan embarazadas.
- Hemorragia vaginal en general durante el primer trimestre, puede ser tan abundante que requiera transfusión.
- Preeclampsia durante el primer trimestre del embarazo (12% de las pacientes).
- Aproximadamente un tercio de las pacientes experimentan náuseas y vómitos.
- Hipotiroidismo, debido al aumento de la hormona gonadotropina coriónica, que tiene una actividad estimulante de la tiroides (10% de las pacientes).
- Tamaño uterino excesivo para el tiempo de gestación (50% de las pacientes).
- Quistes luteínicos tecales.(15% de las pacientes).^{1,2,4.}

DIAGNOSTICO DE NTG

La clave para el diagnóstico y tratamiento de toda Neoplasia Trofoblástica Gestacional (NTG) se basa en la detección y cuantificación del marcador específico, Gonadotropina Coriónica Humana (HCG), esta hormona es una glucoproteína de peso molecular entre 37 y 38 kDa, tiene un gran contenido de carbohidratos, aproximadamente el 30 %, la mayor cantidad de carbohidratos

hallados en una hormona humana. Es producida por el sinciciotrofoblasto. La cantidad de HCG presenta clara correlación con la cantidad de tejido trofoblástico viable en la paciente con NTG. La molécula esta formada por dos cadenas polipeptídicas, α y β , que se hallan unidas por enlaces no covalentes. La subunidad α contiene 93 aminoácidos, un peso molecular aproximado de 18 000 del cual el 4% son carbohidratos. La cadena β esta compuesta de 146 aminoácidos, tiene un peso molecular aproximado de 28 000 con un 10% de carbohidratos. La cadena α es muy semejante a la subunidad α de las Hormonas Luteinizante (LH), Foliculo estimulante (FSH) y Estimulante de la tiroides (TSH). 3, 14,15

Las subunidades α y β de la HCG se mantienen unidas por fuerzas electrostáticas e hidrofóbicas que se pueden separar tratando con urea acidificada. No se conoce la actividad biológica intrínseca de cada subunidad por separado, pero si se recombinan las subunidades se recupera prácticamente el 100% de la bioactividad. La función de la HCG es primariamente luteinizante y luteotrópica. El trofoblastos de la placenta normal, de la mola hidatidiforme y coriocarcinoma secretan las subunidades α , β y HCG completa. Sin embargo, existe un importante exceso de subunidades α en la placenta y en el plasma de mujeres embarazadas, mientras que la subunidad β se halla presente en pequeñas cantidades, Su presencia en la orina en los primeros días del embarazo es la base de las diversas pruebas

de laboratorio, en ocasiones puede ser identificada en 14 días después de la concepción. Una exacta cuantificación de HCG (más de 1 000 000 UI/l) así como un estudio histopatológico permiten diagnosticar tempranamente la NTG. Sin embargo, una sola determinación de HCG no es diagnóstica. Ocasionalmente, se puede observar un título de HCG alto con un embarazo normal único o múltiple, se puede usar la amniografía para realizar un diagnóstico definitivo. Además la cuantificación de HCG es un método eficiente de monitorear los efectos del tratamiento en pacientes con NTG. 1, 13-15

La HCG no es específica del embarazo normal ni de la NTG, ya que pequeñas cantidades pueden ser secretadas por tumores gastrointestinales, testiculares y por otros tumores, la HCG se mide en individuos en los cuales se sospecha la existencia de tumores considerandola como un " marcador tumoral". También parece ser que el hígado fetal y el riñón normalmente producen pequeñas cantidades de HCG. 16

Para la cuantificación de la HCG se utiliza el procedimiento de radioinmunoanálisis (RIA) donde la hormona es marcada de manera radiactiva con 125 . El RIA se basa en el principio de la inhibición de la fijación competitiva y recurre a anticuerpos policlonales o monoclonales selectivos como agentes de fijación in vitro. El RIA es un método muy sensible para vigilar la concentración de HCG, aproximadamente 100 veces más sensible que los métodos de bioinvestigación.

EL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (MHC)

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) es una región cromosómica constituida por una serie de genes que codifican para la expresión de moléculas en la superficie celular de la mayor parte de las células nucleadas. Estas moléculas son glucoproteínas que actúan como antígenos de histocompatibilidad, así como inmunorreguladoras en la mayor parte de las respuestas inmunes en las que los linfocitos T necesitan reconocer al antígeno, también participan en la susceptibilidad para el desarrollo de enfermedades mediadas inmunológicamente. 6-7, 17-19

MHC es un nombre genérico, en cada especie tiene un nombre adicional y ha sido identificado con certeza en humanos, chimpances, gorilas, ratones, ratas, perros, conejos, gatos, caballos, ovejas, aves, etc. El MHC en el humano es conocido como Antígenos Leucocitarios del Humano (HLA), reside en dos cromosomas el 6 y 15. El brazo corto del cromosoma 6 es portador de todos los genes HLA, excepto uno, el cual está presente en el cromosoma 15. Se ha dividido en genes clase I, II y III con base en su distribución tisular (Tabla No.1), a su estructura y función similar. Los antígenos clase I, denominados también de histocompatibilidad, incluyen a los antígenos HLA-A, -B y -C. Los antígenos clase II, llamados también antígenos de las células B, incluyen a los antígenos HLA-D, -DR, -DQ y -DP. (Tabla No. 2). Los antígenos clase III incluyen a los factores del complemento, C2, C4a, C4b y Bf. 6,7, 18-21

TABLA No.1 Distribución de los productos de los genes HLA-A, -B y -DR.

TIPO DE CELULA	HLA-A, -B, -C	HLA-DR
LINFOCITO T	+	---
LINFOCITO B	+	+
MONOCITOS	+	+
GRANULOCITOS	+	---
PLAQUETAS	+	+
CELULAS ENDOTELIALES	+	+
FIBROBLASTO	+	+
ESPERMATOZOIDES	+	+
ERITROCITOS	---	---
EPIDERMIS	+	+

Tomado de Simons (8)

TABLA No. 2. LISTA COMPLETA DE HLA ESPECIFICOS RECONOCIDOS (1991)

<u>HLA-A</u>	<u>HLA-B</u>	<u>HLA-C</u>	<u>HLA-DR</u>	<u>HLA-D</u>	<u>HLA-DQ</u>	<u>HLA-DP</u>	
A1	B5	B50(21)	Cw1	DR1	Dw1	DQ1	DPw1
A2	B7	B51(5)	Cw2	DR103	Dw2	DQ2	DPw2
A203	B703	B5102	Cw3	DR2	Dw3	DQ3	DPw3
A210	B8	B5103	Cw4	DR3	Dw4	DQ4	DPw4
A3	B12	B52(5)	Cw5	DR4	Dw5	DQ5(1)	DPw5
A9	B13	B53	Cw6	DR5	Dw6	DQ6(1)	DPw6
A10	B14	B54(22)	Cw7	DR6	Dw7	DQ7(3)	
A11	B15	B55(22)	Cw8	DR7	Dw8	DQ8(3)	
A19	B16	B56(22)	Cw9(w3)	DR8	Dw9	DQ9(3)	
A23(9)	B17	B57(17)	Cw10(w3)	DR9	Dw10		
A24(9)	B18	B58(17)		DR10	Dw11(w7)		
A2403	B21	B59		DR11(5)	Dw12		
A25(10)	B22	B60(40)		DR12(5)	Dw13		
A26(10)	B27	B61(40)		DR13(6)	Dw14		
A28	B35	B62(15)		DR14(6)	Dw15		
A29(19)	B37	B63(15)		DR1403	Dw16		
A30(19)	B38(16)	B64(14)		DR1404	Dw17(w7)		
A31(19)	B39(16)	B65(14)		DR15(2)	Dw18(w6)		
A32(19)	B3901	B67		DR16(2)	Dw19(w6)		
A33(19)	B3902	B70		DR17(3)	Dw20		
A34(10)	B40	B71(70)		DR18(3)	Dw21		
A36	B4005	B72(70)			Dw22		
A43	B41	B73			Dw23		
A66(10)	B42	B75(15)		DR51			
A68(28)	B44(12)	B76(15)		DR52			
A69(28)	B45(12)	B77(15)		DR53	Dw24		
A74(19)	B46	B7801			Dw25		
	B47				Dw26		
	B48						
	B49(21)						
		Bw4					
		Bw6					

Tomada de Tsuji (21)

ESTRUCTURA Y FUNCION DE LAS MOLECULAS HLA.

Las moléculas HLA son glucoproteínas de membrana celular, que forman heterodímeros constituidos por una cadena polipeptídica α asociada no covalentemente a una cadena polipeptídica β . Las cadenas están plegadas en uno o varios dominios discretos, algunos de los cuales están estabilizados por puentes disulfuro. (Fig. No.1)

Las cadenas clase I están compuestas de aproximadamente 340 aminoácidos que forman tres dominios extracelulares, una parte transmembranal y una fracción intracitoplasmática. Estas son codificadas por los genes en los locis A, B y C del complejo HLA en el cromosoma 6 y son altamente polimórficas. La cadena Beta 2 microglobulina ($\beta_2 m$) consiste en un dominio extracelular de 100 aminoácidos, es codificada por un gen en el cromosoma 15 y es no polimórfica. 6-10,18,20,23,24

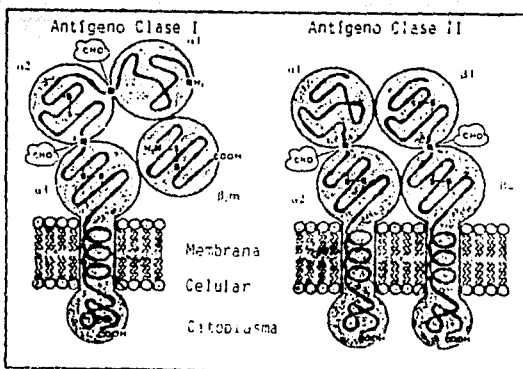


FIGURA No. 1 Tomada del Simons (8)

Las cadenas α y β de la clase II están compuestas por aproximadamente 230 aminoácidos cada una, ambas están distribuidas en dos dominios extracelulares, una parte transmembranal y una fracción intracitoplasmática. Son codificadas por genes de las subregiones DP, DQ ó DR del complejo HLA, muchas cadenas β y α son altamente polimórficas. 8,9,24.

La función de las moléculas MHC es la de activar a los linfocitos T contra el antígeno, es decir, cuando un linfocito T reconoce al antígeno en asociación con productos del MHC en la superficie de una célula presentadora de antígenos, el linfocito T es restringido en el reconocimiento del antígeno. Identifican lo no propio de los antígenos de lo propio de las moléculas MHC, induciendo la inmunidad. Por tanto las moléculas HLA son necesarias para la activación de los linfocitos T contra el antígeno. Las células T solo reconocen al antígeno cuando ha sido expresado en la membrana celular de las células presentadoras de antígenos de tal suerte que se forma un complejo trimolecular entre el receptor del linfocito T, el antígeno y el producto del MHC. Los receptores para el antígeno de las células T aparentemente reconocen los epitopes del antígeno en conjunción con parte de sus mismo MHC, lo que provoca la restricción del reconocimiento de lo propio de lo no propio. 17,19,22,24,25.

El sistema HLA es polimórfico en extremo, y tiene múltiples formas alternativas o alelos del gene en cada locus conocido, por lo general, se hereda como una unidad. Esta unidad se conoce como

haplotipo, ya que los individuos heredan un cromosoma de cada padre, cada individuo tiene dos haplotipos HLA. Todos los genes HLA son codominantes (Fig No. 2), basados en la herencia mendeliana por lo que existe un 25 % de oportunidad de que dos descendientes compartan ambos haplotipos, 50 % de que compartan solo un haplotipo y 25 % de que no compartan ningún haplotipo. 24,25.

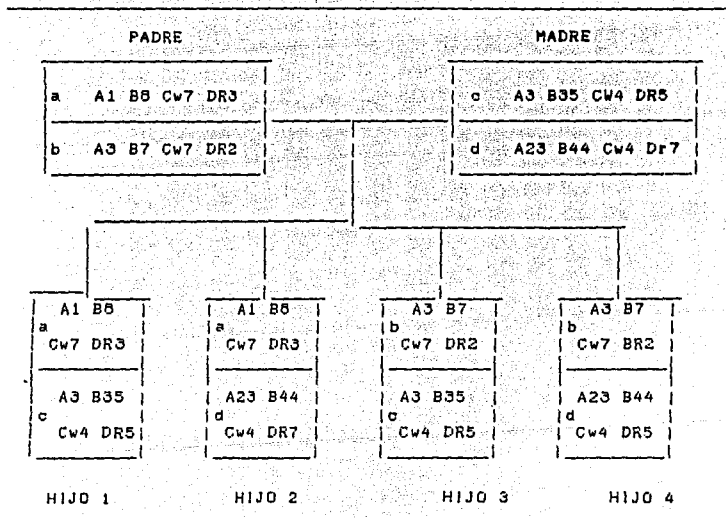


FIGURA No. 2. Esquema que muestra la herencia codominante de los haplotipos HLA. Tomada del Malcolm (26).

HLA Y ENFERMEDAD

Recientemente se ha comprobado que algunas enfermedades guardan estrecha relación con HLA únicos; por tanto en algunos casos el tipo de HLA puede ser útil para confirmar el diagnóstico clínico (Tabla No. 3). Las enfermedades asociadas con los antígenos HLA tienen diversas características, en general; son de causa y mecanismo fisiopatológicos desconocidos, con un patrón hereditario determinado en cuanto a su distribución y están asociadas con anomalías inmunológicas. 4, 24-27

Han surgido varias hipótesis de como los genes HLA pueden desarrollar susceptibilidad hacia algunas enfermedades. 1.- La hipótesis del mimetismo propone que algunos antígenos que pertenecen a una partícula patógena pueden parecerse a ciertos HL, de esta manera, el individuo que posee estos HLA es susceptible a la enfermedad causada por el patógeno. Esta hipótesis comprende dos alternativas. La primera sostiene que debido a la similitud entre el agente causal y el antígeno HLA, el agente etiológico se reconoce como propio y no se monta respuesta inmunitaria, y el agente causal produce la enfermedad. La segunda alternativa sugiere que el agente causal se detecta como ajeno, y se monta una respuesta vigorosa contra él. Debido a la similitud del agente y el antígeno la respuesta inmunitaria se dirige contra el antígeno HLA, y es esta respuesta "autoinmune" la que produce la enfermedad. Esta teoría ha ganado apoyo por las observaciones siguientes. El HLA-B27 se ha relacionado con la enfermedad de Reiter tanto como con la Espondilitis Anquilosante.

TABLA No. 3 HLA y asociaciones patológicas

ENFERMEDAD	HLA	FRECUENCIA (%)		
		PACIENTES	CONTROLES	R. R. (%)
Enfermedad de Hodgkin.	A1	40	32.0	1.4
Hemocromatosis idiopática.	A3	76	28.2	8.2
	B14	16	3.8	4.2
Enfermedad de Behcet.	B5	41	10.1	6.3
Hiperplasia adrenal congénita.	B47	9	0.6	15.4
Espondilitis anquilosante.	B27	90	9.4	87.4
Enfermedad de Reiter.	B27	79	9.4	37.0
Tiroiditis subaguda.	B35	70	14.6	13.7
Diabetes mellitus insulino dependiente.	DR3	91	57.3	7.9
Lupus eritematoso sistémico.	DR3	70	28.2	5.8
Narcolepsia.	DR2	100	22.0	100.0
Artritis reumatoide	DR4	50	19.4	4.2
Síndrome de Goodpasture	DR2	88	32.0	15.9

R. R. = Riesgo relativo

Tomada con modificaciones del Klein. (16)

La enfermedad de Reiter en los individuos B27 prosigue a ataques de disentería por varias cepas de Shigella flexneri. Estas cepas de Shigella productoras de la enfermedad, contienen un plásmido que codifica una proteína con secuencia de 5 aminoácidos idéntica a uno de los antígenos HLA-B27. 25,26

2.- La hipótesis del receptor propone que las moléculas HLA son requeridas para la expresión de receptores o son receptores para patógenos, hormonas o drogas. Algunos investigadores especulan que pacientes con enfermedad Celíaca (una enfermedad caracterizada por una intolerancia al gluten, una proteína presente en el trigo, centeno, avena y cebada) poseen un receptor para gluten y el HLA-B8, con el cual la enfermedad es asociada, es requerido para la expresión de este receptor. 25,26

3.- El HLA es selectivo para péptidos antígenicos: La hendidura captadora de antígenos de solo ciertas moléculas HLA, puede aceptar el péptido antigénico procesado, que es finalmente el responsable de la enfermedad. Si el HLA-B27 es la única clase de molécula que puede aceptar un péptido etiológico en particular, para la presentación a una célula CD8, solo individuos con B27 estarán predispuestos a la enfermedad. 25,26

4.- El receptor de las células T para el antígeno, determina la predisposición a la enfermedad: El receptor para el antígeno de la célula T, es en realidad responsable para la predisposición a la enfermedad, ya que el reconocimiento de la célula T esta restringido por una molécula HLA. Supongamos que todos los

individuos B27 pueden formar un complejo particular de antígeno procesado B27, pero sólo ciertos de esos individuos poseen linfocitos T con restricción para B27, con el receptor apropiado de T para reconocer al complejo. Si el reconocimiento del complejo por estas células T provoca Espondilitis Anquilosante, entonces sólo los individuos con estas células T, en particular podrán desarrollar la enfermedad. Aunque los receptores para el antígeno en las células T, son finalmente los responsables de la enfermedad, se observa una asociación aparente con HLA-B27 debido a la restricción de estas células T con dicho antígeno. 25,26

Se debe enfatizar en que estos ejemplos son solo especulativos, y que excepto donde se especifica no hay evidencia que apoye esta especulación, todas las asociaciones básicamente son de tipo estadístico. 6,7

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando que el riesgo de padecer NTG en México es de 1 de 144 a 625 embarazos, se podría decir que es una enfermedad rara, sin embargo, tomando en cuenta que los índices de natalidad en nuestro país son elevados, el riesgo debe considerarse también elevado, esto aunado a la escasa investigación que se ha realizado sobre el tema, son dos factores importantes que llevarón a realizar el estudio de la NTG. Relacionar la presencia de un HLA más frecuente en NTG.

OBJETIVO GENERAL: Identificar la frecuencia de los Antígenos Leucocitarios del Humano (HLA) clase I, en parejas que presentan la Neoplasia Trofoblástica Gestacional y acuden al Hospital Juárez de México SSA. durante el periodo Mayo de 1992 a Mayo de 1993, con la finalidad de encontrar marcadores genéticos.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- A) Encontrar la incidencia de NTG en el Hospital Juárez de México.
- B) Calcular el Riesgo Relativo (R.R) de algunos HLA hacia NTG.
- C) Determinar la edad materna promedio con mayor riesgo hacia NTG.
- D) Establecer cual es el tipo de NTG más frecuente en la población estudiada.

- F) Formar un banco de sueros anti-HLA a partir de placentas de mujeres multigestas, conservarlo por congelación para utilizarlo en las pruebas de histocompatibilidad.
- G) Reunir linfocitos T y B a partir de sangre periférica de pacientes que acuden al área de investigación del Hospital Juárez de México SSA., conservarlos en nitrógeno líquido para obtener la especificidad de los sueros mencionados en el objetivo F.

HIPOTESIS DE TRABAJO: Las enfermedades asociadas con los antígenos HLA tienen diversas características, en general, estas enfermedades 1.) Son de causa y mecanismo fisiopatológicos desconocidos, con un patrón hereditario determinado en cuanto a su distribución ; 2.) Estan asociadas con anomalías inmunológicas. La NTG cumple con algunas de estas características, lo que hace suponer que presenta asociación con algún marcador genético HLA.

MATERIAL Y METODO

TIPO DE ESTUDIO

La investigación se realizó de acuerdo con un diseño observacional, transversal y descriptivo.

POBLACION

En el presente estudio se incluyeron 30 mujeres que acudieron al servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Juárez de México SSA., durante el periodo: mayo de 1992 a mayo de 1993, y a las cuales se les realizó el diagnóstico clínico de NTG; a 22 hombres, parejas de algunas de las mujeres con NTG; así como a grupos control integrado por 50 mujeres y 50 hombres sin relación NTG. A la población antes descrita se le realizó la tipificación de su HLA mediante la técnica de microlinfotoxicidad.

CRITERIO DE INCLUSION

- Mujeres con diagnóstico clínico de Neoplasia Trofoblástica Gestacional y sin ninguna otra patología agregada.
- Para los grupos control fueron incluidos hombres y mujeres sanos en edad reproductiva, sin relación hacia NTG.

CRITERIOS DE EXCLUSION

- Mujeres que por diagnóstico clínico se les descarte la NTG

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

MATERIAL	ESPECIFICACION
Tubos de ensaye	13 x 100 KIMAX
Tubos de ensaye con tapón de rosca	16 x 150 PYREX
Tubos Fisher	Capacidad 1ml
Pipetas Pasteur	
Pipetas graduadas	1, 5 y 10 ml.
Placas de Terasaki	De 60 micropozos
Cubreobjetos	De 50 x 75 mm
Microjeringa	Hamilton múltiple de 50/1 ul
Microjeringa	Hamilton múltiple de 100/2 ul
Microjeringa	Hamilton múltiple de 250/5 ul
Microjeringa	Hamilton de 50/1 ul
Termómetro	Brannan de -4 a 400°C
Cámara de Newbauer	Propper, Lumicyte
Perlas de vidrio	De 2mm de diámetro
EQUIPO	
CENTRIFUGAS	
Centrífuga	6000 rpm (Sorvall, Mod. RT6000B)
Microcentrífuga	14 000 rpm (IEC Micro-MB)
MICROSCOPIOS	
Microscopio simple	(Olympus CH-2)
Microscopio de contraste de fases invertido	(Zeiss, Axiovert 10)
Tanque de nitrógeno líquido	

EQUIPO DIVERSO

ESPECIFICACION

Incubadora con CO ₂	37°C (Napco, Mod. 302)
Termo baño	100°C (Felisa)
Refrigerador	-80°C (Revco, Mod. ULT 7120-5-D-U-A)
Refrigerador	-60°C (Revco, Mod. ULT 2186-0-E)
Balanza granataria digital	(Mettler, Mod. PJ 300)
Potenciómetro	(Corning, Mod. pH meter 220)

REACTIVOS

Sueros anti-HLA, A y B	Frascos 1ml (Biotest Diagnostics)
Medio para cultivo celular	* RPMI-1690, Para preparar un litro (Sigma)
Ficoll-Hypaque	Frasco 1 litro (Lymphoprep, Nycomed)
Suero fetal de ternera	Frasco 125 ml (HyClone)
Complemento de conejo	Frasco 1ml (Biotest Diagnostics)
Eosina	al 5% (Sigma)
Formaldehido	al 33%, pH 7 (Merck)
Aceite de parafina	Frasco 1 litro (Sigma)
Etanol	
Dimetilsulfoxido, DMSO	al 10% (Sigma)
Azida de sodio	al 0.1% (Sigma)
Azul tripano	al 0.4% (Sigma)

* RPMI: Siglas en ingles del lugar donde se desarrollo éste medio de cultivo celular; Roswell Park Memorial Institute.

MÉTODOS

DETERMINACION DE HLA POR MICROLINFOTOXICIDAD

Se prepararán placas de Terasaki de 60 micropozos cada una, con sueros anti-HLA de diferentes especificidades, 15 sueros anti-A y 22 sueros anti-B, (Tabla No.1) se mantienen en congelación a -40°C hasta su uso. Se obtiene sangre periférica de mujeres con diagnóstico clínico de NTG (con embarazo de 3 meses aproximadamente) y de su respectiva pareja; se desfibrina la sangre: 7-8 ml de sangre son colocados en un tubo de ensaye con tapón de rosca que contiene perlas de vidrio de 2 mm de diámetro. Se asegura bien el tapón y se procede a agitar el tubo perpendicularmente, sobre su propio eje, durante 5-10 minutos. Los linfocitos se aíslan por medio de un gradiente de densidad con Ficoll-Hypaque. Una vez separados y lavados los linfocitos, se ajustan a una concentración de 1 a 2 X 10⁶ células por mililitro; para esto se utiliza un Hemocitómetro o Cámara de Neubauer para realizar la cuenta celular, cuando la muestra se encontraban muy concentrada se diluye con medio de cultivo celular, en caso contrario, es decir, que la muestra estaba muy diluida, se concentra mediante centrifugación. Se enfrentan las células a los sueros que están en las placas de Terasaki que contienen los antisueros para los antígenos HLA. Se incuban 30 minutos a temperatura ambiente, añadir complemento de conejo e incubar durante una hora a temperatura ambiente. Añadir colorante vital eosina al 5% y se esperaran 2 minutos para adicionar formaldehído al 33% (pH aproximado 7.2), dejar pasar de 10-15

minutos, por último se cubrieran las placas con cubreobjetos para leer en el microscopio invertido de contraste de fase.

INTERPRETACION DE LA PRUEBA: Se trabajó con placas de Terasaki de 60 micropozos cada una, las cuales tenían organizados los anti sueros como se muestra en la tabla No. 1, cada pozo fue evaluado considerando los siguientes criterios:

EVALUACION MICROSCOPICA DE LA PRUEBA

La reacción es designada por estimación del porcentaje de células muertas. Si el control negativo contiene células muertas, el porcentaje de dichas células deberá de ajustarse en los demás pozos.

INTERPRETACION:

ESCALA	% DE CITOTOXICIDAD	INTERPRETACION
1	0-10%	Negativa
2	11-20%	Negativa, dudosa
4	21-50%	Positiva, poco convincente
6	51-80%	Positiva
8	81-100%	Muy positiva

TABLA No. 1. Esquema que muestra la forma en que fueron colocados los 37 sueros anti HLA en las placas de Terasaki.

	A	B	C	D	E	F
1	CP	CN	A1	A1	A2	A2
2	A23	A9	A9	A2, A28	A3	A3
3	A24	A25	A26, A25, Aw34	A26	A10	A29
4	A32	A28, A2	A11	B35, Bw53, Cw4	B35, Bw53	B5
5	B5, B35, Bw53	B7	B7, Bw42	B7, B27	B27	B12
6	B12, B49, Bw41	B13	B14	B15	B16	B17
7	B18	B21	B8	Bw4	B40	Bw42
8	Bw8	B37	B49, Bw52	Bw73	B35, Bw53	B21
9	B40	B5	B7, Bw42	B27	B18	A28, A2
10	A10	B35, Bw53	B12	A29	A32	*

CP= Control Positivo, CN= Control Negativo

* A32, A25, Aw34, AwE6.

CONTROLES POSITIVO Y NEGATIVO

El control positivo es un suero anti-humano producido en conejas que es fuertemente citotóxico para los linfocitos humanos. El control negativo es suero de varones sanos, grupo sanguíneo AB y que no tiene reactividad citotóxica.

CONSERVACION DE LINFOCITOS: En un vaso de precipitados se coloca hielo picado y se enfrían dos tubos de ensayo por muestra, se coloca 1 ml de suspensión celular, ajustada a la concentración de $2 \text{ a } 8 \times 10^6$ células por mililitro (ver técnicas de microlinfotoxicidad). Por otro lado se prepara la mezcla de congelación, cada mililitro de mezcla debe tener lo siguiente : 0.6 ml de medio para cultivo celular, más 0.2 ml de suero fetal de ternera y 0.2 ml de dimetilsulfoxido (DMSO). El DMSO es tóxico para las células, debe estar a 4°C para bajar su toxicidad. Se agrega 1 ml de la mezcla de congelación en un tubo de Fisher y se mantiene en baño de hielo, adicionar 1 ml de suspensión celular sobre la mezcla cuidadosamente formando una interfase, invertir el tubo para que ambas capas se mezclen, se introduce en etanol frío (4°C) y se deja en este sistema durante dos horas, después pasar al tanque de Nitrógeno líquido para almacenarlos hasta su uso.

DESCONGELACION: Una vez que se saca el tubo de Fisher del tanque de nitrógeno líquido, se sumerge en un baño maría de 37°C y se agita, descongelados los linfocitos se lavan con medio RPMI-1640 al 20% de suero fetal de ternera, se resuspenden en medio RPMI-1640, para sacar el porcentaje de viabilidad se utilizará azul tripano al 0.4% ; se prepara una suspensión celular 1:5 con medio de cultivo celular. Transferir 0.5 ml de azul tripano al 0.4% a un tubo de 13 x 100 adicionar 0.3 ml de medio de cultivo celular y 0.2 ml de suspensión celular, agitar y esperar de 5-10 minutos, para posteriormente realizar el conteo del número de células viables, al microscopio y con la Cámara de Neubauer.

OBTENCION DE SUEROS ANTI HLA POR EXTRACCION A PARTIR DE PLACENTA: Se trabajará con placentas de mujeres múltigestas. Se desprende la membrana amniótica que cubre la cara materna de la placenta y se pinza con el cordón umbilical; con un bisturí se cortan los cotiledones, en forma de cuadrícula, se despinza y se cortan las arterias y venas de la cara fetal de la placenta. Se deja escurrir hasta el día siguiente dentro de un tamiz de plástico que debe estar sobre un vaso de precipitado, de esta manera se recolecta la sangre, la cual se centrifuga para obtener el suero que se conservará con azida de sodio al 0.1% y en congelación a -40°C .

ABSORCION DE ANTISUEROS HLA: Se mezclan volúmenes iguales de suero y de plaquetas, se incuban durante 20 minutos a 20°C , en la incubación las plaquetas se resuspenden por agitación lenta, por lo menos se requieren tres absorciones, centrifugar y probar los sueros contra linfocitos T ó B con el fin de asegurar que hay actividad anti HLA.

DISEÑO ESTADÍSTICO

La relación de una enfermedad en particular con un antígeno HLA asociado, se cuantifica mediante una tabla de contingencia de 2 X 2:

GRUPO	NUMERO DE INDIVIDUOS		
	PRESENCIA DEL ANTIGENO	AUSENCIA DE ANTIGENO	TOTAL
PACIENTES	a	b	a+b
CONTROLES	c	d	c+d
TOTAL	a+c	b+d	n

Con los datos de esta tabla se realizan los cálculos siguientes:

$$\text{FRECUENCIA DEL ANTIGENO EN LOS PACIENTES: } p = \frac{a}{a + b}$$

$$\text{RIESGO RELATIVO: } RR = \frac{a \times d}{b \times c}; \text{ este se puede definir como}$$

la posibilidad que tiene un individuo que presenta el antígeno HLA asociado con enfermedad de desarrollar esta, en comparación con un individuo que carece de tal antígeno.

RESULTADOS Y DISCUSION

INCIDENCIA DE NTG EN EL HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO SSA.

EL Número de atenciones obstétricas realizadas en el Hospital Juárez de México SSA. en el periodo Mayo de 1992 a Mayo de 1993 fue de 9040, de las cuales 38 presentaron NTG. lo que da una incidencia de 1:237.

HLA DE LA POBLACION ESTUDIADA

De los 38 casos de NTG que se presentaron en el periodo de estudio, solo se captaron 30. Los primeros resultados obtenidos, Gráficas 1 a 4 y Tablas 1 a 4 muestran los Antígenos Leucocitarios del Humano (HLA) Clase I de los individuos estudiados. En el caso de las mujeres con NTG, sólo de 22 se presentó su pareja de las 8 mujeres restantes no fue posible tipificar a su pareja, cabe aclarar que el grupo control no tiene relación como pareja, son solo hombres y mujeres sin historia de NTG.

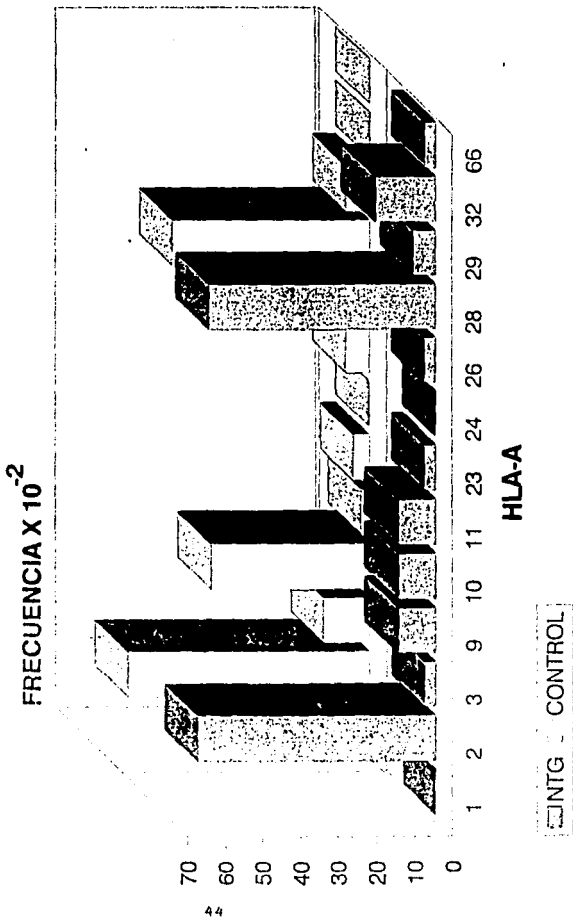
Los antígenos HLA más frecuentes en la población estudiada (parejas con NTG y grupo control), fueron: A2, A9, A28, B16, B35 y B40. Este hallazgo es similar a lo reportado en la bibliografía,¹⁶⁻²⁷ pues son los antígenos más frecuentes en la población mexicana.

El antígeno A2 es el que se encuentra con mayor frecuencia en la población estudiada, ésto debido a que es considerado un antígeno universal que se presenta en la mayoría de la población mundial.

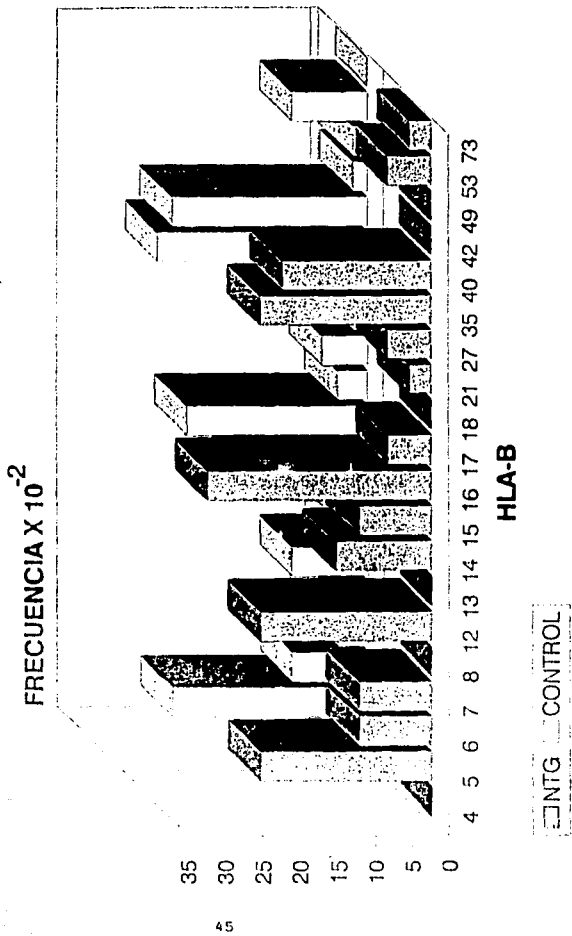
**TABLA No. 1. FRECUENCIA DE HLA CLASE I ESPECIFICO EN LA
 POBLACION FEMENINA ESTUDIADA.**

HLA	FRECUENCIA EN MUJERES CON NTG	FRECUENCIA EN MUJERES CONTROL	HLA	FRECUENCIA EN MUJERES CON NTG	FRECUENCIA EN MUJERES CONTROL
A1	0.000	0.120	Bw4	0.000	0.040
A2	0.633	0.640	B5	0.233	0.260
A3	0.033	0.120	Bw6	0.100	0.100
A9	0.100	0.420	B7	0.100	0.040
A10	0.100	0.020	B8	0.000	0.060
A11	0.100	0.040	B12	0.233	0.100
A23	0.033	0.000	B13	0.000	0.040
A24	0.000	0.060	B14	0.133	0.060
A26	0.033	0.000	B15	0.100	0.200
A28	0.600	0.520	B16	0.300	0.240
A29	0.066	0.060	B17	0.066	0.040
A32	0.166	0.000	B18	0.000	0.060
Aw66	0.033	0.000	B21	0.033	0.020
			B27	0.066	0.060
			B35	0.233	0.280
			B40	0.200	0.260
			Bw42	0.000	0.020
			B49	0.000	0.020
			Bw53	0.066	0.100
			Bw73	0.033	0.000

FRECUENCIA DE HLA CLASE I EN LA POBLACION FEMENINA ESTUDIADA



FRECUENCIA DE HLA CLASE I EN LA POBLACION FEMENINA ESTUDIADA

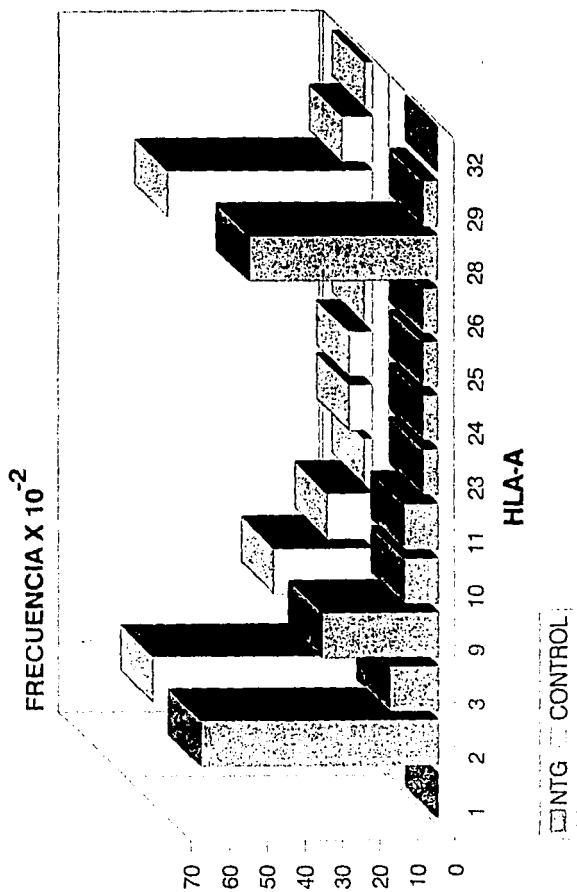


GRAFICA No. 2

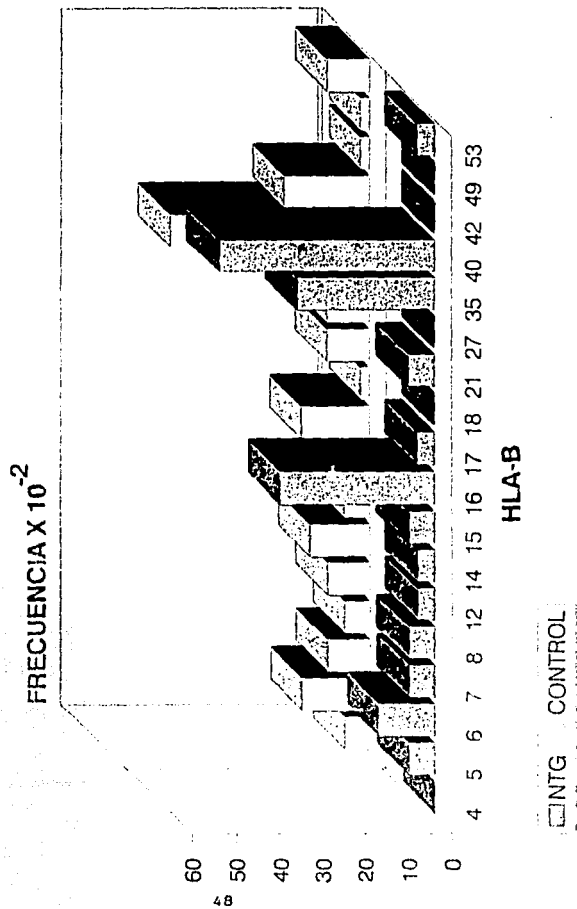
TABLA No. 2. FRECUENCIA DE HLA CLASE I EN LA POBLACION MASCULINA ESTUDIADA

HLA	FRECUENCIA EN HOMBRES RELACIONADOS CON NTG	FRECUENCIA EN HOMBRES CONTROL	HLA	FRECUENCIA EN HOMBRES RELACIONADOS CON NTG	FRECUENCIA EN HOMBRES CONTROL
A1	0.000	0.160	Bw4	0.000	0.060
A2	0.636	0.580	B5	0.066	0.160
A3	0.136	0.080	Bw6	0.136	0.100
A9	0.316	0.260	B7	0.066	0.000
A10	0.090	0.120	B8	0.066	0.100
A11	0.090	0.020	B12	0.044	0.140
A23	0.044	0.060	B14	0.044	0.060
A24	0.044	0.060	B15	0.066	0.080
A25	0.044	0.020	B16	0.362	0.160
A26	0.044	0.000	B17	0.044	0.020
A28	0.500	0.540	B18	0.000	0.100
A29	0.044	0.080	B21	0.066	0.100
A32	0.000	0.020	B27	0.000	0.080
			B35	0.320	0.460
			B40	0.500	0.200
			Bw42	0.000	0.020
			B49	0.000	0.020
			Bw53	0.044	0.100

FRECUENCIA DE HLA CLASE I EN LA POBLACION MASCULINA ESTUDIADA



FRECUENCIA DE HLA CLASE I EN LA POBLACION MASCULINA ESTUDIADA



GRAFICA No. 4

**HLA Y RIESGO RELATIVO HACIA NEOPLASIA TROFOBlastica GESTACIONAL
DE LA POBLACION ESTUDIADA.**

El Riesgo relativo, es decir la posibilidad que tiene un individuo que presenta un determinado antígeno HLA asociado estadísticamente a una enfermedad de desarrollar esta, en comparación con un individuo que carece de tal antígeno, es presentado en las tablas 3-6, de donde se puede resaltar que para la población femenina estudiada, los HLA que tienen mayor Riesgo Relativo (R.R), fueron los siguientes: HLA-A10: R.R= 5.4, HLA-A11: R.R= 2.66, HLA-B*2: R.R= 2.73, HLA-B7: R.R= 2.66 y HLA-B14: R.R= 2.41. Para el caso de la población masculina estudiada los HLA con mayor R.R, fueron los siguientes: HLA-A11: R.R= 4.9, HLA-A25: R.R= 2.33, HLA-B16: R.R= 3.0, HLA-Bw42: R.R= 2.33 y HLA-B17: R.R= 2.3. Aunque algunos antígenos muestran R.R. altos no podemos relacionarlos con NTG, debido a que el número de pacientes que lo presentaron es muy reducido (de 1 a 3), lo que sugiere que los resultados son estadísticamente no significativos.

TABLA No. 3. HLA Y RIESGO RELATIVO HACIA NEOPLASIA TROFOBlastICA
GESTACIONAL DE LA POBLACION FEMENINA ESTUDIADA.

HLA	NUMERO DE INDIVIDUOS						R.R
	PPA	PAA	TOTAL DE PACIENTES	CPA	CAA	TOTAL DE CONTROLES	
A1	0	30	30	6	44	50	0.0
A2	19	11	30	32	18	50	0.97
A3	1	29	30	6	44	50	0.25
A9	6	24	30	21	29	50	0.34
A10	3	27	30	1	49	50	5.4
A11	3	27	30	2	48	50	2.66
A23	1	29	30	0	50	50	0.0
A24	0	30	30	3	47	50	0.0
A26	1	29	30	0	50	50	0.0
A28	18	12	30	26	24	50	1.38
A29	2	28	30	3	47	50	0.82
A32	5	25	30	0	50	50	0.0
Aw66	1	29	30	0	50	50	0.0

PPA = Pacientes con presencia del antígeno

PAA = Pacientes con ausencia del antígeno

CPA = Controles con presencia del antígeno

CAA = Controles con ausencia del antígeno

R.R = Riesgo relativo

TABLA No. 4. HLA Y RIESGO RELATIVO HACIA NEOPLASIA TROFOBlastICA GEstACIONAL DE LA POBLACION FEMENINA ESTUDIADA.

HLA	NUMERO DE INDIVIDUOS						R.R
	PPA	PAA	TOTAL DE PACIENTES	CPA	CAA	TOTAL DE CONTROLES	
Bw4	0	30	30	2	48	50	0.0
B5	7	23	30	13	37	50	0.87
B6	3	27	30	5	45	50	1.0
B7	3	27	30	2	48	50	2.66
B8	0	30	30	3	47	50	0.0
B12	7	23	30	5	45	50	2.73
B13	0	30	30	2	48	50	0.0
B14	4	26	30	3	47	50	2.41
B15	3	27	30	10	40	50	0.44
B16	9	21	30	12	38	50	1.35
B17	2	28	30	2	48	50	1.71
B18	0	30	30	3	47	50	0.0
B21	1	29	30	1	49	50	1.68
B27	2	28	30	3	47	50	1.11
B35	10	20	30	14	36	50	1.28
B40	6	24	30	13	37	50	0.71
Bw42	0	30	30	1	49	50	0.0
B49	0	30	30	1	49	50	0.0
Bw53	2	28	30	5	45	50	0.64
Bw73	1	29	30	0	50	50	0.0

FPA = Pacientes con presencia del antígeno
 PAA = Pacientes con ausencia del antígeno
 CPA = Controles con presencia del antígeno
 CAA = Controles con ausencia del antígeno
 R.R = Riesgo relativo

TABLA No. 5. HLA Y RIESGO RELATIVO HACIA NEOPLASIA TROFOBlastICA
GESTACIONAL DE LA POBLACION MASCULINA ESTUDIADA.

HLA	NUMERO DE INDIVIDUOS					TOTAL DE CONTROLES	R. R
	PPA	PAA	TOTAL DE PACIENTES	CPA	CAA		
A1	0	22	22	8	42	50	0.0
A2	14	8	22	29	21	50	1.26
A3	3	19	22	4	46	50	1.81
A9	7	15	22	13	37	50	1.32
A10	2	20	22	6	44	50	0.73
A11	2	20	22	1	49	50	4.9
A23	1	21	22	3	47	50	0.71
A24	1	21	22	3	47	50	0.71
A25	1	21	22	1	49	50	2.33
A26	1	21	22	0	50	50	0.0
A28	11	11	22	27	23	50	0.85
A29	1	21	22	4	46	50	0.54
A32	0	22	22	1	49	50	0.0

PPA = Pacientes con presencia del antígeno

PAA = Pacientes con ausencia del antígeno

CPA = Controles con presencia del antígeno

CAA = Controles con ausencia del antígeno

R. R = Riesgo relativo

TABLA No. 6. HLA Y RIESGO RELATIVO HACIA NEOPLASIA TROFOBlastICA GESTACIONAL DE LA POBLACION MASCULINA ESTUDIADA.

HLA	NUMERO DE INDIVIDUOS						R.R
	PPA	PAA	TOTAL DE PACIENTES	CPA	CAA	TOTAL DE CONTROLES	
Bw4	0	22	22	3	47	50	0.0
B5	2	20	22	8	42	50	0.52
Bw6	3	19	22	5	45	50	1.42
B7	2	20	22	3	47	50	1.56
B8	2	20	22	5	45	50	0.9
B12	1	21	22	7	43	50	0.3
B14	1	21	22	3	47	50	0.74
B15	2	20	22	4	46	50	1.15
B16	8	14	22	8	42	50	3.0
B17	1	21	22	1	49	50	2.3
B18	0	22	22	4	46	50	0.0
B21	2	20	22	5	45	50	0.9
B27	0	22	22	4	46	50	0.0
B35	7	15	22	23	27	50	0.63
B40	11	11	22	10	40	50	1.27
Bw42	1	21	22	1	49	50	2.33
B49	0	22	22	1	49	50	0.0
Bw53	1	21	22	5	45	50	0.42

PPA = Pacientes con presencia del antígeno

PAA = Pacientes con ausencia del antígeno

CPA = Controles con presencia del antígeno

CAA = Controles con ausencia del antígeno

R.R = Riesgo relativo

EDAD Y RIESGO HACIA NTG

La edad promedio de las mujeres que presentaron NTG fue de 25.4 años; siendo el rango estudiado de 15 a 47 años, 8 pacientes (28 %) se encontraban entre los 15-19 años, 17 (58 %) entre los 22-30 años y 4 (14 %) entre los 36-47 años.

La edad promedio de los hombres cuya pareja presento NTG fue de 27.5 años; siendo el rango estudiado de 18 a 47 años, 3 de ellos (10 %) se encontraban entre los 18-19 años, 23 (73.3 %) entre los 22-30 años y 4 (16.7 %) entre los 35-47 años.

El promedio de edad de las pacientes que presentaron NTG se encuentra en la edad reproductiva, lo que no tiene relación con lo reportado en la bibliografía mundial; ¹⁻⁴ la NTG esta considerada con mayor riesgo en mujeres muy jóvenes ó en mujeres que rebasan los 40 años. De lo anterior podemos considerar que en nuestro país, la edad de la paciente no fue determinante para el riesgo hacia NTG.

TIPO DE NTG QUE SE PRESENTO CON MAYOR FRECUENCIA

De las 30 pacientes estudiadas; 21 (70 %) presentaron mola Hidatidiforme completa, 2 de ellas (6.6 %) presentaron mola Hidatidiforme parcial, a las 7 restantes no se les pudo determinar el tipo de NTG. Lo anterior se relaciona con lo reportado en la bibliografía mundial; ^{1,3,4} la mola hidatidiforme completa tiene mayor incidencia sobre la mola hidatidiforme parcial.

NTG Y LUGAR DE ORIGEN

El lugar de origen de las pacientes con NTG se concentro en lugares de bajos recursos del Estado de México y el Distrito Federal lo que también se relaciona con lo reportado en la bibliografía mundial; ^{1,3,4} la NTG es una enfermedad de alto riesgo en países de escasos recursos, donde quizas el factor predisponente que representa un riesgo mayor es el nutricional.

CONCLUSIONES

-Para la población femenina estudiada, los HLA que tienen mayor Riesgo Relativo (R.R) hacia NTG, fueron los siguientes: HLA-A10: R.R= 5.4, HLA-A11: R.R= 2.66, HLA-B12: R.R= 2.73, HLA-B7: R.R= 2.66 y HLA-B14: R.R= 2.41. Para el caso de la población masculina estudiada los HLA con mayor R.R hacia NTG, fueron los siguientes: HLA-A11: R.R= 4.9, HLA-A25: R.R= 2.33, HLA-B16: R.R= 3.0, HLA-Bw42: R.R= 2.33 y HLA-B17: R.R= 2.3. Aunque algunos antígenos muestran R.R. altos no podemos relacionarlos con NTG, debido a que el número de pacientes que lo presentaron fué muy reducido (de 1 a 3), lo que sugiere que los resultados son estadísticamente no significativos.

- No se encontró evidencia suficiente para establecer que existan antígenos HLA Clase I relacionados con la NTG.

-La incidencia de NTG en el Hospital Juárez de México en el período Mayo 1992 a Mayo 1993 fue de 1 de cada 247 embarazos.

-El promedio de edad de las pacientes que presentaron NTG se encuentra en la edad reproductiva; 25.5 años para las mujeres y 27.5 años para los hombres.

-El tipo de NTG que se presenta con mayor frecuencia es la mola hidatidiforme completa.

-Se obtuvieron sueros de placentas de mujeres multigestas, los que se tipificaron por la prueba de microlinfocitotoxicidad. No se logró la monoespecificación de los sueros, sin embargo se infirió en la mayoría, la presencia del antisuero contra el alelo A2.

-Debido a problemas técnicos no fue posible la conservación de linfocitos para la formación de un banco.

-Se recomienda seguir el estudio, para determinar si los antígenos HLA Clase II presentan relación con NTG.

REFERENCIAS

1. Hammond CB, Szulman AE, Ginecología y Obstetricia, Texas Actuales. Interamericana Mc Graw-Hill; Mxico D.F., Vol. 3/ 1988, 431-451.
2. Szulman AE, Surti U. The syndromes of hydatidiform mole. I. Cytogenetic and morphologic correlations. Am J Obstet Gynecol. 1978; 131: 665-671.
3. Sierra JJ, et.al. Ginecol and Obstetrics. Harper & Row., 1990., 2:1-28
4. Disaia PJ, Creasman WT. Ginecología y Oncología, 3a. Edición. Mdica Panamericana., Buenos Aires, Argéntina 1991: 163-179.
5. Segall M, Bach FH. HLA y Disease. N Engl J Med 1990; 322:1879-1990.
6. Stites DP, Stobo SD, Fudenberg HH, Wells JV. Inmunología Básica Clínica. 7a. ed. El Manual Moderno, S.A de C.V., Mxico, D.F., 1992., 56-68.
7. Bellanti JA. Inmunología. 3a. ed. Interamericana, Mxico, D.F., 1986., 56-86.
8. Simons M, Tait B. 1984., Detection of immune-associated genetic merkes of human disease. Churchill Livingstone N.Y.
9. Langman. Embriología Mdica. 5a. ed. Mdica Panamericana., Mxico, D.F., 1990., 1-67.
10. Bruce MC. Embriología Básica de Patten. 5a. ed. Interamericana Mc Graw-Hill, Mxico, D.F., 1990., 272-296.
11. Ganong WF. Fisiología Mdica. 10a. ed. El Manual Moderno, Mxico, D.F., 1988., 353-386.
12. Pritchard JA, Mac Donald PC, Gant NF, Williams. Ostetricia. 3a. ed. Salvat Ed., Mxico, D.F., 1990., 93-118.

13. Miller DS, Seifer DB. Endocrinologic Aspects of gestational trophoblastic diseases. *Int J Fertil* 1990; 35:137-153.
14. González MJ. *Ginecología*. 5a. ed. Ed. Científicas y Técnicas, S.A. Barcelona España., 1988., 411-424.
15. Garza R, Livas R, Pioneda G. Chorionicadenoma destruens: presentation of 2 cases. *Ginecol-Obstet-Mx*. 1989; 57:139-41.
16. Klein J. *Immunology*. Blackwell Scientific Publications. Massachusetts, USA., 1990., 161-187.
17. Watine BD, Isra I A, Kourilsky P. The regulation and expression of MHC class I genes. *Immunology Today* 1990; 11:286-292.
18. Paul WE. *Fundamental Immunology*. Reven Press, New York. USA 1989., 445-565.
19. Trowsdale J, Ragoussis J, Duncan R. Map of the human MHC. *Immunology Today* 1991; 12:443-446.
20. Lai E, Wilson R, Hood LE. Physical maps the mouse and human immunoglobulin-like loci. *Adv Immunol* 1989;46:1-59.
21. Tsuji K, Aizawa M y Sasazuki T. HLA 1991, Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference Held in Yokohama, Japan, 6-13 November, 1991. 1992:1
22. Of the nomenclature committee on leukocyte antigens. Nomenclature for factors of the HLA system, 1987. *Tissue Antigens* 1989; 32:177-187.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

23. Thorsby E. Structure and function of HLA molecules. *Transplantation Proceedings* 1987; 19:29-35.
24. Correa Beltrán María Dolores. La presentación de antígenos., *Ciencia* 1992., 43, 233-244.
25. Malcolm JS. and Brian DT. *Detection of Immune-associated Genetic Markers of Human Disease*; Churchill Livingstone, New York, N.Y., 1984.
26. Altmann DM, Sansom D, Marsh SG. What is basis for HLA-DQ associations with autoimmune disease ? *Immunology Today* 1991; 12:267-270.
27. Arellano J, Isibasi A y otros. HLA antigens to amoebic abscess of the liver in Mexican mestizos. *Parasite Immunology* 1987; 9:757-760.
28. Yamashita K, Wake N, Araki T, Ichinoe K, Kuroda MA. Further HLA study of hydatidiform moles. *Ginecol Oncol* 1981; 11:23-28.
29. Tsuji Y, Matsuda S, Hirai T, Fujiwara H, Hamaoka T. Selective expression of paternal human major histocompatibility antigens on the surface of hydatidiform mole cells. *Gann* 1979; 69:849-853.
30. Ko TM, Hsieh CY, HD Ho, Hsieh FJ, Lee TY. Restriction fragment length polymorphism analysis to study the genetic origin of complete hydatidiform mole. *Am-J-Obstet-Gynecol* 1991; 164:901-906.
31. Canong WF. *Fisiología Mdica*, 10a. ed. El Manual Moderno, Mexico, D.F., 1986., 353-386.

32. Kiley E, Olerup O. HLA polymorphisms and evolution. *Immunology Today* 1992; 13:333-335.
33. Hudson L, Hay FC. *Practical Immunology*. 3a. ed. Brackwell Scientific Publications., Massachusetts, USA 1989., 457.
34. Arellano J, Vallejo M y otros. HLA profile of Mexican Meztizo population. *Tissue Antigens* 1981; 18:242-246.
35. Sunderland CA, Redman CWG, Stirrat GM. Characterization and localization of HLA antigens on hidatidiform mole. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151:130-135.
36. Kovats S, Main EK, et al. A Class I Antigen, HLA-G, Expressed in Human trophoblasts. *Science* 1990; 245:220-223.
37. Wegmann TG. The presence of class I MCH antigens at the maternal-fetal interface and hypotheses concerning the survival of the murine fetal allograft. *J. Reprod. Immunol* 1981; 3:267-270.
38. Sunderland CA, et al. The expression of Major Histocompatibility Antigens by human chorionic villi. *J Reprod. Immunol* 1981; 3: 323-331.
39. Ogbimi AD, Jhonson PM. Further immunological and chemical characterisation of human syncytiotrophoblast microvillous plasma membrane-associated components. *J Reprod. Immunol* 1980; 2:99-108.
40. Hunter V, Raymond E, et al. Efficacy of Metastatic Survey in the Staging of Gestational Trophoblastic Disease. *Cancer* 1990; 65:1647-1650.

41. Crumpton MJ. HLA in Medicine. British medical Bulletin; Churchill Livingstone., London 1987; 43:156-183.
42. Heather MD. . Histocompatibility Techniques; Kissmejer-Nielsen Editor; Elsevier/ North Holland, 1979., 1-43.
43. Roitt I. Essential Immunology., 7a. ed. Blakwell Scientific Publications., Massachusetts, USA 1991; 270-300.
44. Souka AR, Kholeif A, Zaki S, Rocca M, and Ghanem I. Human leukocyte antigen in hydatidiform mole. Int J Gynecol Obstet 1993, 41: 257-260.