

Actualizaciones

Inmunogenética en medicina clínica

Parte III. Asociación HLA-Enfermedad

Gloria de Egea, Eduardo Egea, Marcela Salazar, Antonio Iglesias,
Juan Yunis, Scarlet Lechín, Iván Yunis, Edmond J. Yunis

Debido a la importancia que tiene el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) en el control genético de la respuesta inmunitaria y por ende en la homeostasis de la inmunorregulación, una vez aclarados los mecanismos genéticos subyacentes a la expresión de las moléculas de clase I y II, la investigación se dirigió al estudio de la asociación sistema HLA-enfermedad.

Cualquier alteración, bien sea por exceso o por defecto, en la expresión de las moléculas de clase I y II tiene importantes consecuencias en el tipo de respuesta inmune producida por el individuo y en la asociación de dicha respuesta con determinadas enfermedades. Para analizar los grados de asociación entre determinados marcadores genéticos y la susceptibilidad a presentar una determinada enfermedad, se han utilizado los siguientes métodos epidemiológicos: a) Estudio de la probabilidad o riesgo de padecer la enfermedad portando un alelo específico en un sistema polimórfico. b) Determinación del riesgo relativo, para lo cual se calcula el riesgo de padecer una enfermedad en una pobla-

ción de sujetos que expresan un marcador en relación con el riesgo en una población control, c) Comparación de los marcadores de un individuo que tiene un haplotipo determinado con los marcadores de los mismos haplotipos de sujetos normales. d) Estudio de los haplotipos extendidos de individuos con una determinada enfermedad y los de su familia y comparación con los haplotipos extendidos de familias sanas.

Los primeros estudios acerca de la asociación HLA-enfermedad fueron llevados a cabo por Lilly en ratones en 1964 (1), con la demostración del papel del CMH en un tipo de leucemia inducida por virus. Tres años más tarde Amiel (2) analizó la asociación del CMH con la enfermedad de Hodgkin. En 1973, fue informada la asociación entre espondilitis anquilosante y el antígeno HLA-B27 (3) y desde entonces se ha podido demostrar la asociación de un gran número de patologías en el ser humano con el CMH. A pesar de que existe un número de enfermedades en las cuales se encuentran alelos específicos de varios loci del CMH, éstos se expresan también en individuos normales. A partir del V Taller Internacional de Histocompatibilidad, reunido en 1972 (4), se pudo demostrar que la mayoría de los antígenos del sistema HLA varían considerablemente en frecuencia de acuerdo a las diferentes áreas geográficas, como consecuencia de variaciones alélicas a nivel de los isotipos del CMH. Por ello, es importante que cada país tenga cuidadosamente establecida la antigenicidad en su población de control con el fin de poderla comparar con la de la enfermedad a estudiar.

Drs. Gloria de Egea, Eduardo Egea Bermejo, Antonio Iglesias : División of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Department of Pathology Harvard Medical School; Facultad de Medicina Universidad del Norte, U. Libre, Barranquilla, Colombia; Dra. Marcela Salazar Vallejo: Department of Pathology Harvard Medical School; Drs. Juan Yunis, Iván Yunis: División of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Department of Pathology Harvard Medical School; Dr. Scarlet Lechín: División of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Boston, Department of Pathology Harvard Medical School, Sección de Psicofarmacología y Medicina Psicosomática, Instituto Medicina Experimental, Universidad Central de Venezuela, Caracas; Dr. Edmond J. Yunis: División of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Department of Pathology Harvard Medical School, Chief Division of Immunogenetics, Dana Farber Cancer Institute, Professor of Pathology, Harvard Medical School.

Solicitud de separatas al Dr. Iglesias.

Entre los mecanismos propuestos para explicar la asociación entre HLA y enfermedad se encuentran los siguientes:

1. Alteración de los antígenos propios de clase I. Desde 1971 Jerne (5) y en 1978 Benacerraf observaron que las células T periféricas tienen poca reactividad para antígenos autólogos del CMH, y en cambio responden bien a antígenos alogénicos. Zinkernagel y Doherty en 1974 (6) demostraron la restricción genética de dicha respuesta; con estos antecedentes Geczy en 1981 (7) pudo identificar en cultivos celulares de *Klebsiella pneumoniae* (cepa K43) un factor que podía modificar un componente celular del B27 o cerca de él, y descubrió que esta modificación podía inducir a las células efectoras para que lesionaran tejidos específicos como la sinovial (produciendo sinovitis), con cierta predilección por el tejido conectivo del esqueleto axial. Esta alteración en la inmunorregulación desembocaría en una serie de eventos responsables de la aparición de espondilitis y uveítis. Posteriormente fue posible establecer que algunos microorganismos comparten ciertas estructuras con antígenos de productos génicos del HLA y con base en ellos Ogasawara y Yu (8) pudieron demostrar el posible mimetismo celular entre la pared de la membrana celular de la *Klebsiella* y el antígeno B27 a partir de una sesuencia de seis aminoácidos. La asociación con el B27 entre los pacientes con espondilitis anquilosante con compromiso axial y uveítis anterior es del 90% en la población caucásica, comparándola con una presencia de B27 en sólo 5 a 10% de los controles sanos (9, 10). La asociación del B27 con espondilitis anquilosante en cuatro grupos raciales (caucásicos, negros, japoneses y amerindios) sugiere que los genes ligados al B27 están comprometidos en la patogénesis de la enfermedad. En otras artritis reactivas producidas por otros microorganismos como *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia* y *Salmonella* no se ha podido evidenciar alteración o mimetismo molecular entre la estructura de su membrana y los genes del alelo B27. Por lo tanto la susceptibilidad de los individuos a espondilitis-uveítis, parece que se hereda en forma dominante (7, 10).

2. Disminución o ausencia de genes supresores dominantes y su asociación con el HLA-D/DR. En estudios realizados en ratones y cobayos, se encontró evidencia de que la ausencia o disminución de ciertos genes supresores se asocia a algunas enfermedades relacionadas con el HLA-D/DR, como se aprecia en las cepas de ratones NZB, MRL/Cpr, BXSB con problemas autoinmunes. En el humano, un número de enfermedades autoinmunes, o probablemente de origen autoinmune muestran una fuerte asociación con el HLA-D/Dr, como ocurre con la diabetes mellitus juvenil (tipo I), el lupus eritematoso sistémico (LES), la enfermedad de Graves, la miastenia gravis, el síndrome de Sjögren primario, la hepatitis crónica activa, la enfermedad de Addison idiopática, la enfermedad celíaca, la dermatitis herpetiforme y su asociación con el Dw3 y el DR3 en caucásicos; la artritis reumatoide y la diabetes mellitus con el DR4, la esclerosis múltiple y la lepra tuberculoide con el DR2. En los japoneses el haplotipo HLA-Bw52, Dw12 y el DR2 se asocian a una hiperrespuesta a ciertos antígenos solubles y no solubles como el toxoide tetánico, el polen del cedro y el antígeno de la pared del estreptococo; y los haplotipos Bw54, DYT y DR4 se asocian a una alta respuesta a los antígenos mencionados anteriormente (9-13).

En estudios de función celular, se ha documentado una alteración de la función supresora en muchas de las enfermedades autoinmunes y en la hiporrespuesta a ciertos antígenos, lo que sugiere un defecto en las células T supresoras, debido a la ausencia de genes supresores dominantes asociada al HLA (13).

3. Los antígenos del CMH como receptores. Se ha planteado la hipótesis de que los antígenos del HLA pudieran ser receptores para ciertos patógenos. Al respecto está demostrado que el antígeno Duffy de los eritrocitos actúa como receptor para la malaria; en cambio aquellos individuos que carecen del antígeno Duffy tienen resistencia a la malaria. La susceptibilidad a la malaria, dependiente del antígeno Duffy, es dominante (14). Helleinius y col en 1978 demostraron que los antígenos HLA-A y HLA-B pudieran ser los receptores para el virus de Semliki Forest.

4. Mimetismo molecular. En los últimos años, se ha postulado la posibilidad de que los productos génicos del HLA tengan una estructura parecida a la de ciertos determinantes antigénicos de algunos microorganismos, especialmente bacterias Gram (-), lo que explicaría la reactividad cruzada entre el microorganismo patógeno y un antígeno del sistema HLA. Este mecanismo se invoca actualmente para explicar la relación entre HLA-B27 y la espondiloartropatía seronegativa; la enfermedad de Behcet y el HLA-B5; la tiroiditis aguda de De Quervain y el HLA-Bw35.

Esta predisposición para desarrollar artritis reactiva no es habitual en las enfermedades reumáticas, lo que permite plantear la posibilidad de ciertas precondiciones para que se establezca la artritis. Esta predisposición está relacionada con algunos mecanismos inmunes y con ciertos serotipos de patógenos entéricos como las bacterias Gram (-), tales como: *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella* y *Campylobacter*. Esta artritis reactiva podría ser el producto de la interrelación entre el microorganismo y el CMH, posiblemente a través de la hipótesis del mimetismo molecular (15, 16). Llama la atención que la mayoría de las artritis reactivas postdisentéricas están relacionadas con el HLA-B27, HLA-B7 y HLA-Bw60, es decir, la susceptibilidad se encuentra ligada al loci B del CMH (17).

5. Genes ligados al HLA. Se han logrado documentar algunos defectos de genes ligados al HLA y relacionados con el sistema del complemento, en el cual el defecto puede deberse a mutaciones que ocurren a nivel de haplotipos extendidos, expresándose a nivel de sexo masculino preferencialmente. Al analizar, estudios de desequilibrio de ligamiento, estudiando segmentos cromosómicos se ha podido documentar la asociación entre deficiencia del C2 con haplotipos extendidos del HLA-A25, HLA-B18, HLA-DR2, BFS, C4AB2. Por lo tanto se intuyó que la deficiencia del C2 asociada con los haplotipos antes mencionados fuese producto de la mutación del gen de C2 en forma reciente a nivel de haplotipos extendidos; por esto parece que existe una relación muy estrecha entre una alteración génica y la ontogenia de

los haplotipos extendidos y se acuñó por primera vez el término complotipo (18,19) como haplotipos del complemento (19).

6. HLA y alelos anormales en la diferenciación de genes humanos. De Wolf y col (20) estudiaron en 1979 la región H2 en el murino y observaron que la diferenciación en el ratón está controlada genéticamente. Por ello se planteó la posibilidad de que en ciertas asociaciones del HLA se encuentre un desequilibrio de unión con ciertos alelos de genes de diferenciación en el humano y la expresión fenotípica pudiera ser anormal. Por ejemplo, en la asociación del teratocarcinoma testicular en el humano y el Dw27.

7. Defectos enzimáticos no inmunológicos relacionados con el HLA. Está plenamente documentado que los genes de la 21 α y β hidroxilasa se encuentran localizados en el HLA y por lo tanto la deficiencia de la 21 α hidroxilasa en la vía de la esteroidogénesis aunque, sin ninguna regulación inmunológica, está relacionada con el HLA (21).

8. Defecto en la expresión bioquímica de algunas proteínas. Se ha logrado observar en algunas enfermedades que existe un defecto en la producción de determinadas proteínas que posiblemente está codificado por la región del HLA. Esto ocurre en la hemocromatosis idiopática y su asociación con el HLA-A3. La expresión bioquímica parcial se observa en los portadores heterocigotes de dicho alelo, pero la acumulación excesiva de hierro se observa especialmente en los homocigotes (22, 23).

9. Alteración de la expresión de los antígenos de clase I y II inducidos por microorganismos y citoquinas. Se ha podido observar que la expresión de los antígenos de clase I y II puede ser inducida por virus o citoquinas. Uno de los principales mediadores para la expresión de genes del CMH en forma aberrante es el γ -interferón. Lo ; virus son los microorganismos mejor estudiados, ya que incrementan la producción de interferón creando una expresión aberrante de genes del CMH. Campbell y col han demostrado que el γ -interferón incrementa la expresión de antígenos de clase I del CMH en células 6 del páncreas y el mismo grupo ha demostrado que la infección por reovirus incre-

menta la expresión de proteínas clase I del CMH sobre células B humanas y en células de ratas de la cepa RINm5F (24-26).

El grupo de Botazzo y Feldmann en Inglaterra es el que más ha estudiado la posibilidad del papel de la expresión del HLA-DR aberrante, que funcionaría como autoantígeno con pérdida de la tolerancia inmunológica y activación de las células T, las cuales no reconocerían autoantígenos específicos asociados con los antígenos de clase II. Este grupo ha propuesto como uno de los mecanismos de inducción de enfermedades endocrinas de tipo autoinmune (diabetes, tiroiditis) la expresión del HLA-DR aberrante.

10. Asociación con inmunodeficiencia del complemento. La deficiencia de C2 es la más frecuente de las deficiencias del complemento en la población caucásica (un individuo homocigoto por cada 10.000 donadores en un estudio y 1.2% de heterocigotos en otro). Primero se documentó esta inmunodeficiencia en la población normal y posteriormente en el LES, en el síndrome de Henoch-Schonlein, en la polimiositis y las vasculitis. La inmunodeficiencia se debe a la expresión de un alelo null en el loci estructural. Siempre se asocia al haplotipo HLA-A25, HLA-B18 y al HLA-DR2. Se ha descrito deficiencia de C4 homocigota y heterocigota asociada a enfermedades inmunológicas especialmente de tipo autoinmune, como LES, dermatomiositis y vasculitis.

Marcadores de enfermedad

Desde hace tiempo se conoce que un gran número de enfermedades tienen asociación con el CMH, por ejemplo, los pacientes muestran diferente distribución de los marcadores del CMH, particularmente en el caso de los antígenos del HLA, al compararlos con los diferentes controles étnicos (27). En el caso de los pacientes con diabetes mellitus tipo I hay un aumento en la frecuencia de los antígenos HLA B15 (w62), B18, DR3, DR4 (28), así como del alelo del complemento BF*F1 (29), y una disminución de las frecuencias de B7 y DR2. Con el estudio de un gran número de individuos diabéticos se determinó que la distribución del alelo BF*F1 era consistente con una

herencia simple recesiva de este marcador y un aumento de susceptibilidad a la diabetes tipo I (30). Analizando marcadores de CMH entre los diabéticos y sus familias, fue aparente que la mayoría de los pacientes presentaban incremento en los siguientes haplotipos: [HLA-B8, F1C30, DR3]; [HLA-B 18, F1C30, DR3]; [HLA-B15(w62), SC33, DR4] y HLA-B16(38), SC21, DR4] (31).

En los pacientes con enteropatía sensible al gluten (32) dos haplotipos extendidos se encontraban en un 60% de ellos: [HLA-B8, SCO1, DR3] y [HLA-B44, FC31, DR7],

Hay dos excepciones al fenómeno aparente de que los haplotipos extendidos, más que los alelos individuales de CMH son los marcadores de susceptibilidad a las enfermedades asociadas al CMH; en el caso de la espondilitis anquilosante, el HLA-B27 está fuertemente aumentado en pacientes de una gran variedad de grupos étnicos, lo cual sugiere que este alelo definido serológicamente es por sí mismo un alelo de susceptibilidad. La segunda excepción es la esclerosis múltiple, en la cual HLA-DR2 o un subtipo de DR2 (33), más que un haplotipo extendido es el marcador en pacientes caucásicos, especialmente en aquellos de origen nórdico europeo.

Aunque la mayoría de las enfermedades asociadas al CMH tienen aspectos inmunológicos, y quizá etiologías diferentes, hay dos entidades que no funcionan de esta manera, tal es el caso de la hemocromatosis (34) y la hiperplasia adrenal congénita por deficiencia de 21 a hidroxilasa (35). En esta última patología, la razón es evidente, hay dos genes para el citocromo p450 y las 21-hidroxilasas adrenales α y β , cada uno situado a 3' inmediatamente al lado de los genes para C4A y C4B (36, 37). Únicamente se expresa 21-OH β y los defectos o deleciones de este gen se asocian con hiperplasia adrenal congénita (38, 39). Este último es un trastorno recesivo de penetrancia completa. En los pacientes caucásicos en el área de Boston, con la forma perdedora de sal de la enfermedad, aproximadamente un 20% de los haplotipos del CMH corresponden al haplotipo extendido [HLA-Bw47, FC91, DR7] (40), el cual contiene la deleción de 21-OH β (36, 37). El haplotipo extendido [HLA-

B14, Sc2 (1,2) DR1] es común entre los pacientes con inicio tardío de la enfermedad, especialmente entre aquellos de ancestro del sur de Europa (41); hay que anotar que en los pacientes procedentes de Venezuela con esta enfermedad no se encuentra ninguno de los haplotipos extendidos característicos de la población europea (42); esto ilustra claramente la especificidad étnica de los marcadores, tanto en salud como en enfermedad.

La ausencia de [HLA-B8, SC01, DR3] entre los pacientes con hiperplasia adrenal congénita, se debe a la presencia de un gen normal para la 21-OH β en su haplotipo extendido.

Los mecanismos para las asociaciones entre HLA y enfermedad son desconocidos para un gran número de entidades. Aunque se ha tratado de responsabilizar de estas asociaciones a anomalías en los genes de la respuesta inmune (43), el hecho de que los haplotipos extendidos, más que los alelos individuales sean frecuentemente los marcadores, requiere que tengamos cuidado ya que cualquier alelo dentro del grupo del haplotipo extendido puede ser el responsable.

Los complotipos en la medicina clínica

Además de los casos en que se sospecha una deficiencia hereditaria de una de las proteínas del complemento, la tipificación genética del complemento tiene gran aplicación en los trasplantes de tejidos, especialmente en el trasplante de médula ósea (44). En aquellos pacientes que requieren trasplante de médula ósea, la identificación del donante solamente mediante tipificación de HLA puede ser difícil para los pacientes, los cuales pueden presentar reacciones de autoanticuerpos, leucopenia, etc. Ya que los complotipos se encuentran codificados por genes cercanos a la región HLA-D, y el poliformismo del complotipo es extenso, la determinación de los complotipos nos da una información valiosa en la identificación de los donantes.

La identificación in útero de los fetos afectados por enfermedades asociadas al CMH aún no es posible, con una excepción: en una familia con un hijo que padezca deficiencia de 21 α OH, es posible algunas veces, mediante examen del DNA de

las células amnióticas fetales, determinar si el feto también se encuentra afectado (45).

La deficiencia hereditaria de C2 es el resultado de la herencia de ambos C6p's del alelo nulo C2*Q0. Este alelo se encuentra con mayor frecuencia en relación con el haplotipo extendido [HLA-(A25), B18, S042, DR2] (46, 48). Ya que esta deficiencia ha sido informada únicamente en europeos caucásicos y que casi todos los haplotipos de los pacientes homocigotos para la deficiencia tienen elementos de este haplotipo extendido, se puede postular que estos haplotipos descienden de una mutación simple en el loci C2 en el haplotipo del CMH de un paciente caucásico. Las variaciones en la composición alélica específica de C2*Q0 unida a los haplotipos puede explicarse por el cruce al azar entre el haplotipo ancestral y los haplotipos caucásicos. Con estudios de frecuencia de los diferentes haplotipos podemos concluir que la mutación que llevó a esta deficiencia ocurrió probablemente entre 600 y 1.300 años atrás.

De acuerdo con los mecanismos patogénicos expuestos anteriormente, asociados a diferentes enfermedades, planteamos la siguiente clasificación:

1. Alteración aberrante de los antígenos de clase I y II inducidos por un agente infeccioso. Ej.: *Klebsiella pneumoniae* cepa K43 capaz de modificar el componente celular del B27 produciendo la espondilitis anquilosante a través de la teoría del mimetismo molecular; endocrinopatías autoinmunes (tiroiditis, diabetes juvenil).

2. Inmunodeficiencia de los componentes del complemento como C2 y C4. Ej.: LES, síndrome de Henoch-Schonlein, polimiositis, vasculitis.

3. Asociada con haplotipos extendidos. Ej.: Diabetes mellitus tipo I, asociada a ciertos haplotipos extendidos [HLA-B8, SC01, DR3]; [HLA-B18, F1C30, DR3], [HLA-B15 (w62), SC33, DR4] y [HLA-B16 (38), SC21, DR4], Enteropatía por gluten [HLA-B8, SC01, DR3], [HLA-B44, FC31, DR7],

4. Herencia poligénica. Además de genes recesivos o dominantes existe una relación con los antígenos de clase I y II, lógicamente asociada a un factor ambiental. Ej.: LES, esclerosis múltiple,

diabetes mellitus juvenil, enfermedad de Graves, enfermedad celiaca, etc.

5. Deficiencia de la 21-hidroxilasa. Un ejemplo es la deficiencia de la 21-hidroxilasa asociada a hiperplasia adrenal congénita; esta es una enzima importante que participa en el metabolismo del cortisol. La deficiencia de dicha enzima produce

virilización y pérdida de sal; además esta entidad se ha asociado a un haplotipo extendido el [Bw47, FC031, DR7].

6. Asociación de enfermedades por almacenamiento y HLA. Un ejemplo clásico es la hemocromatosis asociada la HLA-A3. (En la Tabla. 4 se observa la asociación entre los diferentes antígenos

Tabla 4. Asociación HLA-enfermedad.

Enfermedad	Isotipo alelo	HLA-A RR	HLA-B Alelo RR	HLA-C alelo RR	HLA D/DR/DQ/DP Alelo RR	Haplotipo extendido	Complotipo	RR
1. Diabetes mellitus Tipo I	A1	1.6	B8 2.5 B18 2.5 B62 2.5 B7 0.1		DR3 4.5 DR4 4.5 DR2 0.1	(B8, DR3, SC01, G1o2) (B18, DR3.FIC30) (B6, DR4, SC33). (B7,DR2,SC31) Protector contra diabetes. (B38,DR4,SC21) Judíos (B8, DR3, SC01, G1o2)		
2. Enteropatía sensible al gluten. Espondilitis enteropática	A1	4.0	B8 8.0 B27 12.0		DR3 9.0			
3. Hepatitis crónica activa			B8 9.0		DR3 9.0			
4. Esclerosis múltiple	A3	1.8	B7 2.5		DR2 4.2			
5. Deficiencia del factor C2						(A25, B18, DR2, SCQO) (A4, B2)		
6. Hiperplasia adrenal congénita (Deficiencia de 21 hidroxilasa)						(A3, Bw47, DR7, FC031-0)		
7. Nefropatía membranosa								
7.1. Inducida por medicamentos								
a. Sales de oro			B8		DR3 34			
b. Penicilamina			B8		DR3			
7.2 No relacionada a drogas			B18		DR3 12.0			
8. Psicosis								
Anticuerpos por clorpromazina			Bw44					
9. Hemocromatosis idiopática	A3	4.7	B14 4.7					
10. Dermatitis herpetiforme			B18		DR3 15.4			
11. Miastenia gravis			B8 2.5		DR3 3.7 DQw2			
12 Asma bronquial alérgica al antígeno Ra5 de la ambrosía. Títulos elevados de IgE						(B7,SC31,DR2)		
13. Vasculitis retiniana					DR4			
14. Enf. de Buerger	A9		B5					
15. Inmunodeficiencia de IgA			B8		DR3			
16. S. de Goodpasture					DR2 15.9			
17. Psoriasis vulgaris			Cw6 13.3					
18. Penfigo (Judíos)			DR4 14.4					
19. S. de Sjögren primario			B8 5		DRw52 8.0			
20. Enf. de Graves-Basedow					DR3 3.7			
21. Enf. de Addison idiopática					DR3 6.3			
22. S. de Reiter			B27 30-35					
23. Uveítis anterior			B27 10.4					
24. Neuritis óptica					DR2 2.4			
25. Tiroiditis subaguda			B35 13.7					

nos clase I, II y III y haplotipos extendidos con las diferentes enfermedades. Se hace énfasis en que la mayoría de estos haplotipos se encuentran definidos en diversos estudios.

En un intento de estudiar e identificar marcadores del CMH en la respuesta inmune específica contra el virus de hepatitis B (HVB), se realizó la

tipificación de los antígenos de las clases I, II y III en personas que recibieron la vacuna de la hepatitis B. Los resultados mostraron que las personas que no respondieron a la vacunación tenían un incremento en la frecuencia de dos haplotipos extendidos: HLA-B8, DR3, SC01 y HLA-B44, DR7, FC31, lo que sugiere que los genes que controlan

Tabla 4. (Continuación)

Enfermedad	Isotipo alelo	HLA-A RR	HLA -B Alelo RR	HLA -C alelo RR	HLA D/DR/DQ/DP Alelo RR	Haplotipo extendido	Complotipo	RR
26. Enfermedades de Behcet			B5 6.3 B5 (Turcos) 10 Bw51 (Turcos) 15 Bw51 (Inglés) 2 B5		DR2 (Uveitis en tunecinos) DR4-DR7 (Otras expresiones en tunecinos) DR4-DR7-DQw3			
27. Enfermedad de Buerger	A9							
28. Enfermedades autoinmunes en chinos de Hong Kong						(A2,Bw46,DRw9)		
29. Polimiositis juvenil					DR3 19 (Latinoamericanos) DR3 4 (Caucásicos) DR3 13 (Negros) (DRw6 (Negros) DR2/DQw1			
30. Polimiositis del adulto a. Asociada al anticuerpo Jo-1			B8 5		DR3 7 DR3/DR6 186 DRw52			
31. Lupus eritematoso generalizado					DR2 3 DR3 3 DR2/DR3 17 DQw1/DQw2	(DR2, DQw1, C4AQ0) (DR3, Dq2, C4AQ0)	(C4AQ0) (C4BQ0) (C2Q0)	6
a. Anti-Ro (SS-A) a1. Títulos altos de anti-Ro b. Blancos y negros americanos c. Homocigotos d. Inducido por hidralazina e. Inducido por procainamida f. Madres de niños con lupus neonatal g. S. de Sjögren secund. a lupus		B8 6			DR4 6 DR6 6 DR3 8 DR2 2		(C4AQ0) (C4AQ0)	3 17
32. Esclerosis sistémica progresiva		B8			DR5 3 DR3 2 DR4 3	(B8.BFS)	(C4BQ0) (C4AQ0)	9
33. Arteritis de células gigantes							(C4AQ0, C4B1)	
34. Artritis psoriásica			B13 4 B17 6 Bw38 9 Bw39 5	Cw6 9				

la falta de la respuesta inmunitaria contra la vacuna de la hepatitis B pudieran estar presentes en el mismo haplotipo extendido. En estos estudios no solamente se encontraron estos haplotipos que pudieran predecir la carencia de respuesta a la vacuna de la hepatitis B, sino que se han inmunizado prospectivamente individuos homocigotos y

en ellos no se provoca respuesta alguna (49). Al parecer la respuesta inmunitaria contra el HB-Ag del HVB está controlada genéticamente, esto ha sido documentado en el modelo murino (50) y recientemente se han iniciado estudios en el humano (51 -54). Por esta razón deberíamos considerar el estudio de la regulación genética de la res-

Tabla 4. (Continuación)

Enfermedad	Isotipo alelo	HLA-A RR	HLA-B Alelo RR	HLA-C alelo RR	HLA D/DR/DQ/DP Alelo RR	Haplotipo extendido	Complotipo	RR
35. Espondilitis psoriásica			B27 12					
36. S.deFelty					DR4 DQw7			
37. Enfermedad celiaca					DR3 10.8			
38. Espondilitis anquilosante			B27 90-100 (Blancos América)					
			B27 24 (Negros América)					
			B27 200 (Japoneses)					
			B27 10 (Indios pima)					
39. Artritis reumatoide			B44		DR4 (Hindúes) 1	(B62, DR4, SC33, DQw3) *		
					DR4 (México) 11	(B44, DR4, SC30, DQw3)		
					DR4 6 (Blancos América)			
					DR4 (Judíos) 1.5			
					DR1 (Judíos) 1			
					DR1 (Hindúes) 7			
					DR4Dw14 (Caucásicos)			
					DR4 Dw4			
					Dw15 (Japoneses)			
					DR4 DQw7			
40. S. de Sjögren secundario					DR4 43	(A2, B44, DR4, DQ7)		
					DR4 4			
41. Hemotoxicidad sec al oro			B8 22		DR3 36			
41. Trombocitopenia inducida por penicilamina					DR4 5			
42. Miastenia gravis sec a penicilamida			B35		DR1 11	(B35.DR1)		
43. Artritis crónica juvenil								
a. Espondilitis juvenil			B27 26		DR4 7			
b. Inicio poliarticular (seropositiva 15%)					DR4 (Homocigote) 2			
					DR5 5	(B44.DR5)		
c. Pauciarticular			B39		DR8 12	(DRw8,BFS)	(C4A4)	3
					DPw2 4	(B35, Cw4, DK5)	(C4A4, C4B2)	

RR= Riesgo relativo =No. de pacientes con marcador. No. de pacientes sin marcador/No. controles con marcador. X = No. de controles sin marcador.

puesta inmunitaria a la vacuna de la hepatitis B y el estudio de la respuesta en individuos receptores a la vacuna HBV para justificar o descartar con bases moleculares, biológicas e inmunológicas, la implementación de un programa de inmunización contra la HVB en nuestro país.

Cayzer (55), de la Universidad de Brisbane, Australia, ha encontrado una relación dosis-efecto con el sistema HLA en la respuesta a la vacuna de la hepatitis B en el hombre, todos sus pacientes que respondieron tuvieron uno o más de los siguientes alelis: B7, B8 o B44, A1, A2, A3, mientras que en los que no respondieron se encontró la presencia de DR4 y DR7. En las mismas condiciones Sasazuki del Departamento de Genética de la Universidad de Kyushu, en el Japón, al estudiar la relación falta de respuesta a la vacuna de la hepatitis B y haplotipos, encontró que todos los individuos positivos para HLA-Bw54, DR4, DR53, Dqw4, no respondieron al HB-Ag. Ninguno de los linfocitos de los pacientes que no respondieron mostró un buen manejo de la respuesta in vitro al HB-Ag; sin embargo, si se hacía depleción de las células T-CD8 de las muestras de sangre periférica de los pacientes que no respondieron, se observaba un aumento en la producción de anticuerpos (Tabla 5).

Los estudios de regulación genética de la respuesta humoral HB-Ag en el modelo murino (50, 51, 56), indican que esta respuesta está regulada por genes localizados en el CMH en el ratón. Los mecanismos celulares responsables de la falta de respuesta al HB s-Ag o a la vacuna de la hepatitis B aún no se han delineado muy bien.

Por lo anterior, decimos que la respuesta inmu-

ne a un antígeno, en particular el HBs-Ag, fallaría si el macrófago no procesa el antígeno, o lo presenta en forma inadecuada a las células T. Por otro lado, las células B pueden perder los receptores necesarios para la interacción con las células T o pudiera ser que estas deficiencias se deban a la ausencia de una clase de clono de células T, el cual potencialmente reaccionaría con un epítipo y éste podría ser tan similar a la región variable de los genes de la clase II, que haría que las células T lo reconocieran como propio.

En este orden de ideas se haría un estudio de familias en poblaciones de áreas endémicas con la finalidad de encontrar haplotipos extendidos, asociado a la falta de respuesta a la vacuna, para lo cual se compararía la frecuencia de estos haplotipos extendidos en los pacientes que responden y en los que no responden y se determinaría la relación con la vacuna. Todo lo anterior, aunado a ensayos de inmunorregulación en la misma muestra, daría lugar a resultados que podrán aplicarse a los programas de salud en nuestro país.

Un segundo aspecto toca la asociación de las enfermedades atópicas y los haplotipos extendidos. Repasemos brevemente la genética y las bases inmunológicas de la respuesta atópica. La IgE, una glicoproteína con funciones de anticuerpo, tiene dos cadenas pesadas y dos livianas; es la inmunoglobulina con menor concentración en el suero (entre 0.10 y 0.40 u/ml). La propiedad biológica más destacada de esta molécula es la de sensibilizar tejidos homólogos (57) a través de la capacidad de unirse a la membrana de basófilos y células cebadas. Los mastocitos son la mayor fuente de histamina y otros mediadores preformados que participan en los estadios iniciales de los procesos alérgicos.

La reacción alérgica por excelencia se lleva a cabo cuando un alérgeno interactúa con dos moléculas de IgE sobre la membrana del linfocito, desencadenando toda una secuencia de eventos bioquímicos y enzimáticos que determinan a la postre los cambios fisiológicos que expresa el cuadro clínico. Los eventos anteriormente descritos se resumen en la Figura 7 (58, 59).

Las enfermedades atópicas, entre ellas el asma

Tabla 5. Genes de inmunosupresión (Is) en el CMH asociados a la falta de respuesta a la vacuna del HBV.

1. HLA-Bw54, DR4 DRw53, DQw2 Japoneses*	(Dominante)
2. HLA-B8, SC031, DR3a, DRw52a, DQw2a HLA-B44, FC31, DR7, DRw53, DQw2	(Recesivo) (Caucásicos)
Mediado por células T supresoras *Abstract: Histocompatibility and Immunogenetics Conference. New York, November 18, 1987.	

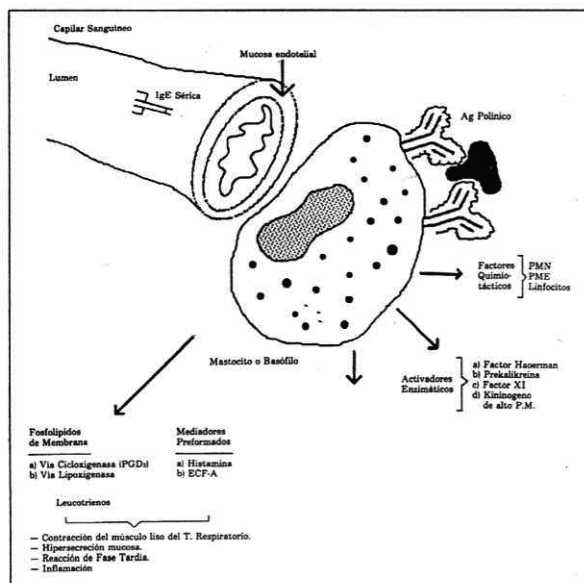


Figura 7. Integración entre un alérgeno y dos moléculas de IgE sobre el linfocito en la reacción alérgica.

bronquial alérgica, son el resultado de la interacción de múltiples factores, tales como la funcionalidad del sistema inmunitario, la fisiopatología del árbol traqueobronquial y los mecanismos genéticos y endocrinos comprometidos en ellas. El control genético del asma es complejo; podemos decir que existen evidencias para considerar la implicación de varios genes asociados al CMH. El fenotipo de la enfermedad también puede ser regulado por niveles de IgE determinados genéticamente; esto puede ser la resultante de un balance entre los genes de la respuesta inmune (Ir) y los genes de inmunosupresión (Is) (localizados en el cromosoma 6) y los genes del IgE total (localizados en cromosomas diferentes al 6).

Los primeros estudios del carácter hereditario del asma fueron realizados por Cooke y Vandzer Veer en 1916 (52-54). Ellos y otros, esclarecieron su predisposición genética (60-64). Recientemente se ha venido estudiando la relación de marcadores genéticos con los posibles mecanismos de herencia en las enfermedades atópicas. Al respecto, los investigadores han enfocado sus esfuerzos hacia el sistema HLA; sin embargo, los resultados en la asociación CMH y enfermedad hasta el momento son polémicos (62-65) y en su mayoría fueron estudios de población. En contraste, los estudios

familiares (66) mostraron segregación entre un haplotipo del HLA con la sensibilización al Ag RaE de la ambrosía; otros estudios también han aportado los mismos resultados (67-69). Por otro lado la respuesta IgE específica al Ag Ra5 de la ambrosía se encuentra altamente asociado con el DR2 y Dw2 (70, 71).

Los genes Ir e Is que controlan la respuesta IgE específica al Ra5 de la ambrosía, se hallan con frecuencia en el haplotipo HLA-B27, SC31, DR2, DQw1 y probablemente se hereden de manera recesiva, produciendo el asma bronquial. Pero la respuesta baja al mismo antígeno se asocia con el haplotipo HLA-B8, SC01, DR3, DRw52, DQw2, y se hereda en forma dominante para producir rinitis. (Tabla 6) (72). No sabemos cuál molécula del CMH, clase II, por ejemplo, es la responsable de estas respuestas. Su identificación indicaría que algún subtipo aún desconocido se encontraría en desequilibrio de enlace con estos haplotipos. Cuando se describan los haplotipos extendidos que contengan esta clase de genes en las poblaciones colombianas, también será necesario identificarlos subtipos que explicarán las bases moleculares de las respuestas inmunitarias en Colombia.

Interrelación entre los diferentes antígenos y las moléculas de clase I y II en la expresión de la enfermedad

Plantear que la enfermedad es producto de dos categorías amplias: comportamental, en la cual la enfermedad es una falla primaria del organismo como un todo; mecanicista, en la cual la enfermedad es resultado de una falla específica y una falla ambiental, sin profundizar en los nuevos avances

Tabla 6. Genes Ir e Is asociados al CMH (alergia a la ambrosía "Ragweed").

1. HLA-B27, SC31, DR2, DQw1 Producción de IgE específica contra Ra5 asociada a asma bronquial*.	(Recesivo)
2. HLA-B8, SC01, DR3, DRw52, DQw2 Baja respuesta de la IgE específica al Ra5 asociada con rinitis alérgica al Ra5 (IgE) (rinitis alérgica).	(Dominante)
* Este mecanismo puede ser ocasionado por la ausencia de células T supresoras. Estos hallazgos requieren confirmación en otros laboratorios de investigación.	

científicos es tener un concepto muy ortodoxo sobre la enfermedad. Para que la enfermedad se exprese existen una serie de factores de riesgo que nos explican una predisposición, mas no la causa de la misma. Esta predisposición es la que tiene diferentes expresiones y una de ellas es la herencia. El polimorfismo genético, las uniones entre los diferentes antígenos con las moléculas de clase K_I "K" la interacción trimolecular entre isotipos del CMH, péptidos o antígenos y el receptor de las células T que producirían implicaciones a nivel de la inmunorregulación normal, traduciría en la era moderna de la introspección el concepto moderno de enfermedad, que no es otra cosa sino los múltiples factores interrelacionados que al acoplarse inadecuadamente producen la enfermedad, pero si los factores antes mencionados realizan el acoplamiento adecuado, se constituye la homeostasis normal. Por ello no estamos de acuerdo con la teoría hiperbólica expresada en 1898 por von Behring (73), la cual decía que todas las enfermedades eran producto de diferentes microorganismos, ni con la expresada por Angeli, editor del *New England Journal* en 1985, quien pensaba que la enfermedad es producto de la psique (74). Pero sí estamos de acuerdo parcialmente con Sagan (75), quien postula que la longevidad en la última centuria debe ser atribuida a la modernización que incluye cambios en la organización social, el control ambiental, control sanitario y dietas, más que al desarrollo de la investigación médica. A través de estos capítulos hemos analizado las diferentes interrelaciones entre las moléculas de clase I y II, los diferentes antígenos implicados en su patogénesis y la expresión multifactorial de las enfermedades sin suscribirnos a meras especulaciones sino con hechos establecidos a nivel experimental.

En la última década el avance de la biomedicina ha sido explosivo debido principalmente al entendimiento y conocimiento de nuevas tecnologías como la biología molecular, y su aplicación a los diversos campos de la medicina, como en la inmunología, la endocrinología, la inmunogenética y la reumatología; de esta manera se ha facilitado un diagnóstico precoz de las enfermedades, y una comprensión de su fisiopatología lo cual lleva por

supuesto al empleo de un tratamiento más efectivo.

Sin embargo a pesar del avance tecnológico en muchas áreas aún desconocemos el antígeno, el papel que éste desempeña en la inmunorregulación, su relación inmunogénica con el huésped y la capacidad de éste para reconocer y procesar dicho antígeno. Si el reconocimiento y procesamiento del antígeno es el adecuado, el resultado que produce la inmunorregulación normal es la salud; pero si éste es inadecuado sobreviene la enfermedad.

De acuerdo con la evolución de la medicina, a principios de este siglo era imposible plantear el título de este capítulo, ya que se desconocía el agente causal de la enfermedad y en ocasiones se acuñaban términos que hacían imposible en esa época diferenciar las enfermedades. Por ejemplo, la palabra reumatismo, se refería a múltiples enfermedades, como: artritis reumatoide, LES, gota, osteoartritis, etc., entidades en las cuales existen antígenos diferentes y fisiopatologías diferentes. En algunas podemos encontrar una base autoinmune, en otras un defecto enzimático o en otras el mimetismo molecular hacia diferentes antígenos como mecanismo causal de la enfermedad por la pérdida de la tolerancia inmunológica. Otro ejemplo lo encontramos en el caso de las enfermedades infecciosas, en las cuales desde los trabajos de Koch, Pasteur, Vidal, quienes desarrollaron la bacteriología y establecieron un axioma clásico con respecto a la etiología: "una bacteria es igual a una enfermedad infecciosa". Posteriormente con el desarrollo de la dinámica farmacológica aparece la era de la antibioticoterapia, logrando controlar gran parte de las enfermedades infecciosas, fallando en el caso de los virus.

De esta manera Jenner en 1724 (76) desarrolló el proceso de la vacunación y creó la vacuna como un mecanismo de tipo inmunológico que inducía al huésped a producir anticuerpos contra determinados antígenos virales como la viruela; posteriormente se desarrollaron las vacunas contra sarampión, parotiditis, etc. Muchos virus también evolucionaron, y hoy en día los retrovirus (tipo I, II y III) han burlado el sistema inmunológico, siendo agentes causales de enfermedades tales

como el SIDA, los linfomas y las leucemias de células T, y la mielopatía espástica del Pacífico colombiano; a pesar de muchos esfuerzos, aún no se ha logrado la vacuna contra dichos agentes.

Igual ocurre con ciertos agentes parasitarios, en los cuales el repertorio antigénico es variable, y los esfuerzos para lograr una vacuna sintética contra dichos antígenos (malaria, leishmania, tripanosoma) apenas se están iniciando. Otras áreas en cuales el papel del antígeno no está definido son el cáncer y las enfermedades autoinmunes. A finales de la década de los 80 y comienzos del 90 debemos plantearnos una pregunta importante: ¿cuál es el antígeno que induce la expresión de genes que van a iniciar una respuesta celular y humoral con subsecuente elaboración de una variedad de mediadores y efectores de una respuesta; enzimas, inmunoglobulinas, proteínas del complemento, factores de crecimiento celular que contribuyen a la pérdida de la inmunorregulación, y de esta manera inducen a una proliferación celular ocasionando las diversas manifestaciones en los tejidos y órganos, produciendo las diferentes enfermedades de acuerdo al antígeno causal?

De acuerdo con las características inmunogénicas del huésped y su interacción con el antígeno causal, la expresión de la enfermedad podría ser secundaria a: 1. Un agente infeccioso. 2. Una estimulación antigénica persistente, (detritus de pared celular bacteriana). 3. Mimetismo molecular. 4. Defecto enzimático. 5. Autoinmunidad. 6. Proliferación celular anormal (neoplasias).

Por lo tanto los esfuerzos de la investigación biomédica deben dirigirse a la identificación del antígeno causal, el cual produce epifenómenos como la autoinmunidad, antígenos aberrantes de clase I y II con pérdida de la tolerancia inmunológica, inflamación aguda y crónica, proliferación celular, trastornos de la inmunorregulación, elaboración de citoquinas, etc.

Otro de los problemas difíciles en la investigación biomédica ha sido el relacionado con la detección de los antígenos implicados en la autoinmunidad, en la cual diferentes antígenos celulares hacen parte de las 10.000 o más proteínas que se encuentran en la célula humana y solamente 30 ó

40 son blancos comunes de la autoinmunidad. Pero con las técnicas de cultivo celular, hibridomas, anticuerpos monoclonales, inmunofluorescencia y clonación celular se han logrado caracterizar varios antígenos especialmente en pacientes con enfermedades endocrinas, infecciosas y reumáticas, que podrían facilitar el tratamiento futuro con vacunación, o a través de anticuerpos antiidiotípicos. En este capítulo sólo analizaremos los antígenos que induzcan trastornos en la inmunorregulación de un huésped susceptible inmunogenéticamente y que esté bien definida su asociación con los isotipos de las moléculas de clase I y II del CMH; por lo tanto los antígenos de tipo infeccioso o tumoral no son parte del objetivo de este capítulo; para ello queremos analizar además algunos mecanismos inmunológicos inducidos por el antígeno y su interrelación con el HLA para producir la enfermedad.

Mimetismo molecular

Se ha sugerido que las infecciones virales pueden producir una enfermedad autoinmune, para ello se planteó la posibilidad de que un determinante antigénico sobre un virus simule determinantes antigénicos a nivel de los tejidos del huésped, y que éste produzca anticuerpos contra los determinantes virales, y de esta manera dichos anticuerpos reaccionarán contra las células, tejidos o estructuras celulares del huésped. Esta teoría ha sido denominada del mimetismo molecular, debido a que el huésped es incapaz de diferenciar lo propio de lo no-propio.

El mimetismo molecular se define como un mecanismo biológico en el cual se comparten diferentes epítopes de microorganismos de diferentes especies, con epítopes de proteínas normales del huésped, induciéndose a través de un microorganismo invasor una respuesta inmune de reacción cruzada contra diferentes tejidos ocasionando la autorreactividad, autoinmunidad o la inflamación. El epítope o el sitio de la célula normal que reacciona con el anticuerpo producido por el microorganismo no se conoce.

El mimetismo molecular se ha estudiado principalmente en virus DNA y RNA. Muchos virus

comparten sitios antigénicos con componentes celulares normales del huésped; estas características comunes han sido demostradas por comparación directa de secuencias de aminoácidos lineales, conformando una estructura homóloga con el huésped; casi siempre la secuencia de aminoácidos que produce la reacción cruzada se limita a unos pocos aminoácidos (77,78). Oldstone y Fujinami (79) observaron que sólo seis aminoácidos fueron suficientes para producir reactividad cruzada, ya que los anticuerpos monoclonales utilizados reconocen sólo unos pocos aminoácidos. El hecho de encontrar anticuerpos monoclonales que reaccionan con constituyentes del huésped y del virus sugiere que el virus tiene el potencial de disparar una respuesta inmune y ocasionar una enfermedad, y que una vez iniciado el proceso no necesariamente se va a encontrar el virus. También se ha demostrado que además de los anticuerpos, los linfocitos y las linfoxinas generadas contra el virus pueden reaccionar contra proteínas propias y así de esta manera no es necesaria la presencia de una partícula viral.

Lape y Hoeffler (80) utilizando anticuerpos monoclonales, mostraron que los antígenos T del virus 40 del simio, y las proteínas normales de células del huésped tienen sitios antigénicos comunes. Oldstone y col (77) encontraron que la fosfoproteína P3 del virus del sarampión, la proteína de 140 kilodaltons del virus del herpes, y la hemaglutinina del virus de la vacinia reaccionan con diferentes epítopes sobre filamentos intermedios o intracitoplásmicos; este mismo grupo ha demostrado que péptidos virales con secuencias de aminoácidos homólogos a proteínas propias del huésped pueden inducir "anticuerpos que reaccionan en forma cruzada y células linfoides que proliferan en respuesta a las proteínas propias, de esta manera se genera una respuesta inflamatoria in vivo en el sitio de la localización de la proteína" propia. Para demostrar este fenómeno, Oldstone y col (79) analizaron la homología en la secuencia de la proteína básica de la miglina (MBP) y la polimerasa del virus de la hepatitis B (HBVP). Al practicar un análisis computarizado se demostró una secuencia de aminoácidos similar entre estas dos proteínas, y

se encontró una similitud de las proteínas antes mencionadas con las nucleoproteínas y hemaglutininas del virus de la influenza, la cápside del virus del polio, la proteína central del adenovirus, la poliproteína de Rouss del sarcoma de las aves, el virus de la leucemia de Abelson y la proteína EC-LF2 del virus de Epstein-Barr. Ejemplo:

MBP = Thr-Thr=His Tyr-Gly-Ser-Leu-Pro-Gli-Lys	
66	75
589	598
HBVP = Lle-Gly-Cys-Tyr-Gly-Ser-Leu-Pro-Gli-Lys	
Polímero del virus de la hepatitis B	

Al inmunizar siete conejos con HBVP utilizando ocho aminoácidos, cinco de ellos desarrollaron niveles de anticuerpos contra la MBP; estos títulos de anticuerpos oscilaron entre 5.5 y 8.7. Cuando tales anticuerpos se probaron contra el péptido de HBVP los títulos oscilaron entre 10.4 y 14.5.

Además se pudo observar la generación de anticuerpos y la presencia de linfocitos que reaccionaban en forma cruzada con los péptidos virales y MBP, con producción de infiltrados a nivel del SNC de los conejos. El sitio encefalitogénico inducido por la MBP es un determinante de las células del huésped, que a la vez ha sido mapeado en varias especies de animales; este es un ejemplo clásico de autorreactividad y autoinmunidad en enfermedades asociadas a la desmielinización (77-83).

El mecanismo patogénico posible es la generación de linfocitos efectores que reaccionen en forma cruzada, o de anticuerpos que reconocen determinantes antigénicos específicos sobre células o tejidos blanco. Aun cuando los glicopéptidos de virus participan en estos eventos, las proteínas virales se encuentran dentro de las células y no se expresan a nivel de la membrana celular, pudiéndose inducir la generación de linfocitos T citotóxicos durante las infecciones experimentales y naturales, y a la vez este tipo de daño inmunopatológico no requiere la presencia del microorganismo causal. En ocasiones el microorganismo podría ser depurado, pero los componentes del ataque inmune continúan lesionando los elementos propios, que

a la vez liberarían los antígenos propios o neoantígenos, continuándose de esta manera el daño tisular. Un ejemplo clínico clásico lo observamos en las encefalopatías virales en humanos, en las cuales el agente induce el daño inmunológico, pero rara vez se aísla el agente causal.

En estudios recientes realizados en pacientes con sarampión, quienes han padecido encefalitis viral o panencefalitis esclerosante subaguda, se han obtenido células mononucleares de sangre periférica y del líquido cefalorraquídeo, que proliferan cuando se cultivan con la proteína básica de la mielina. Este trabajo *in vitro* corrobora otro punto para explicar los mecanismos patogénicos inducidos por la proteína básica de la mielina. Finalmente aplicando la teoría de la red de idiotipo-anti-idiotipo se especula que la autoinmunidad ocurre cuando existen determinantes virales que tienen una configuración molecular en espejo con la del huésped pudiendo de esta forma inducir la enfermedad (77-83).

1. Producción de anticuerpos contra el HLA-B27. La espondilitis anquilosante y el síndrome de Reiter son dos enfermedades reumáticas de etiología desconocida, que tienen en común el hecho de tener una susceptibilidad genética relacionada con el HLA-B27. A pesar de ello existen casos de gemelos idénticos que difieren en la susceptibilidad de la espondilitis anquilosante. Existe otro hecho y es que el síndrome de Reiter se encuentra precedido por un discreto episodio de alguna infección de tipo gastrointestinal o genital; entre los organismos que más se le asocian encontramos: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* en el Reiter y la *Klebsiella pneumoniae* en la espondilitis (84-86).

Se ha observado que existe una alta incidencia de *Klebsiella* en la flora intestinal de individuos con espondilitis y que esto coincide con la exacerbación de la enfermedad; también se ha encontrado un incremento de los niveles de IgA contra *Klebsiella* (87).

Mientras que 80% de los casos con síndrome de Reiter que tienen compromiso axial son B27+, solamente el 7% de los controles sanos tienen el B27+ por lo tanto los individuos B27+ tiene un alto riesgo de contraer la enfermedad. Posiblemente

genes localizados dentro del complejo del HLA, codifican para una respuesta inmune que produce susceptibilidad para la enfermedad (88).

Después de analizar la secuencia proteica del Database (Dayhoff Databank) se notaron varias secuencias que comparten el HLA-B27 y la *Klebsiella pneumoniae*, entre estas secuencias se encontró una mejor homología entre el HLA-B27, en los residuos 72-79 y los residuos 188-193 de la *Klebsiella*. Mediante la técnica de ELISA se demostró que siete de 24 sueros, 29% de los pacientes con espondilitis anquilosante, presentaban anticuerpos que se unían a péptidos sintéticos que representan los residuos 69-84 del HLA-B27, y contienen los residuos homólogos de la *Klebsiella* (89). En contraste, ninguno de los 22 individuos HLA-B27 sanos "vgp" el mismo anticuerpo ($p < 0,01$); 34 de los individuos HLA-B27 con síndrome de Reiter tenían el anticuerpo que se une al péptido sintético de los residuos 69-84. Dicho anticuerpo está dirigido contra la región hipervariable del HLA-B27 que comparte regiones homologas con la *Klebsiella pneumoniae* (90). Estos resultados sugieren que una respuesta inmune dirigida inicialmente durante la infección contra *Klebsiella*, también reacciona contra la secuencia homóloga del HLA-B27, produciendo de esta forma una respuesta contra determinantes del huésped (91), como se puede apreciar en la Tabla 7. A pesar de que la teoría del mimetismo molecular explica en algo la autoinmunidad al compartir algunos aminoácidos homólogos entre el huésped y el microorganismo y el hecho de que esta autoinmunidad pueda perpetuarse sin la presencia del germen causal, debido a la reactividad cruzada que esta hace con el huésped, deja muchos interrogantes tales como: 1. En la mayoría de los grupos étnicos estudiados los individuos con espondilitis anquilosante son B27+ (más del 85% de los individuos estudiados), pero la enfermedad sólo ocurre en menos del 50% de los individuos B27+. ¿Qué pasa con el resto de estos individuos? 2. La distribución limitada de la población HLA B27 + (blancos, 8%; negros, 1%). 3. La discordancia de la enfermedad en gemelos idénticos. 4. La relación de agentes infecciosos que afectan la flora intestinal como las bacterias

Klebsiella pneumoniae, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella* con espondilitis anquilosante, síndrome de Reiter y artritis reactiva.

Todas estas posibilidades antes mencionadas suponen la posibilidad de que exista un factor que interactúe con las células B27+ in vivo y desencadene la expresión de la espondilitis anquilosante (90,91).

2. Enfermedades virales. Estudios previos sugieren la posibilidad de que las infecciones virales podrían producir una enfermedad autoinmune. Se ha observado que algunos determinantes antigénicos de un virus pueden simular los determinantes antigénicos del huésped. En estos casos el anticuerpo se produce contra los determinantes virales y puede reaccionar contra las células del huésped. Srinivasappa y col produjeron anticuerpos monoclonales dirigidos contra Coxackie B, dengue, virus de la encefalitis japonesa, coriomeningitis linfocítica, sarampión, rabia, estomatitis vesicular, citomegalovirus, herpes simple y vaccinia. Los hibridomas se generaron después de inmunizartatones Balb/c con dichos virus, y los esplenocitos de ratón fueron fusionados con células de mieloma múltiple; cada uno de los hibridomas fue clonado, y la actividad viral se determinó por un tamizado de los sobrenadantes de los hibridomas utilizando para ello varias técnicas tales como: neutralización viral, radioinmunoensayo, ELISA, hemaglutinación, inmunofluorescencia e inmunoprecipitación. La actividad anti-tisular se obtuvo por un tamizado de los hibridomas clonados por IFI con tejidos normales como cerebro, pituitaria, glándulas salivares, tiroides, tráquea, timo, corazón, glándula adrenal, riñón, páncreas, testículo, ovario, estómago e intestino. De los 635 anticuerpos monoclonales del screening 21 fueron

positivos contra 10 ó más tejidos. Varios de estos anticuerpos reaccionaron contra múltiples órganos y reconocieron a la vez más antígenos en otros órganos.

Este trabajo aporta la posibilidad de que exista un anticuerpo contra un agente infeccioso y que dicho anticuerpo reaccione contra tejidos normales del huésped; a pesar de ser una teoría nueva, aún no existe una prueba definitiva (92).

3. Filamentos intermedios. Al utilizar anticuerpos monoclonales contra la fosfoproteína del virus del sarampión y la proteína del virus del herpes simple tipo I se ha observado que reaccionan en forma cruzada contra una proteína de los filamentos intermedios, como es la vimentina, π cual tiene un peso molecular de 52.000, mientras que el peso molecular de la fosfoproteína es de 70.000 y la proteína del herpes es de 146.000; tanto la fosfoproteína del virus del sarampión como la proteína del virus del herpes, sólo reaccionan con los diferentes determinantes antigénicos del filamento intermedio, la proteína del virus del sarampión no reacciona contra la del herpes (77).

Los anticuerpos contra el citoesqueleto como en el caso de la vimentina, desmina y citoqueratina, podrían jugar un papel en la patogénesis de las enfermedades autoinmunes; sin embargo algunas evidencias indirectas no indican que esté relacionada con los virus (93,94). Estos anticuerpos dirigidos contra el esqueleto cada vez se estudian más en enfermedades como el LES.

4. Enfermedades desmielinizantes. Existen algunas evidencias que sugieren que la etiología de la esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes tienen el antecedente de una infección viral asociada a factores autoinmunes. Un modelo experimental para explicar este fenómeno

Tabla 7. Homología y reacción cruzada entre HLA y *klebsiella pneumoniae nitrogenasa*.

Péptido	Origen	Localización del No. de residuos	Secuencia de aminoácidos	Anticuerpo	Reactividad
1. 31	HLAB27.1	69-84	AKAQTREDLRTLLRY	++++	0.940
2. 45	<i>Klebsiella nitrogenasa</i>	185 - 196-	NSRQTDREDELIGGC	++	0.259
3. 43	HLAB27.1	67-84	CKAKAQTREDLRTLLRY	++++	1.200
4. 46	HLAB27.1	68 - 83+	KAKAQTREDLRTURGGC	+++	0.603

ha sido el desarrollo con la enfermedad alérgica experimental (EAE), la cual se puede producir por inmunización en animales de laboratorio con tejidos del sistema nervioso central, o con proteína básica de la mielina (MBP). Fujinami y Oldstone (77-79) han informado que la MBP y la polimerasa del virus de la hepatitis B producen lesiones de EAE en los conejos. Una de las proteínas más abundantes del sistema nervioso central es la proteolípido de mielina, la cual se encuentra embebida en la membrana de la mielina; su secuencia de aminoácidos ha sido analizada y muestra fuertes evidencias que sugieren similitud entre segmentos de proteínas-proteolípidos de los virus que infectan a los humanos. Así de esta forma los virus podrían inducir: a) fenómenos autoinmunes por el hecho de compartir determinantes antigénicos con moléculas de las membranas celulares normales de los tejidos y la inducción de anticuerpos contra estos tejidos normales (mimetismo molecular), b) la alteración de la inmunorregulación y estimulación de células T citotóxicas, c) liberación de antígenos secuestrados, d) formación de neoantígenos y e) susceptibilidad genética.

5. Carditis reumática y miocardiopatía por *Tripanosoma cruzi*. Una de las mejores evidencias para explicar el mimetismo molecular fue realizada por van de Rijn y col (95) al absorber suero de pacientes con el antígeno adecuado. Esta evidencia se obtuvo en sueros de pacientes con carditis reumática, al observar que el anticuerpo contra el estreptococo beta hemolítico reaccionó con corazón normal y con corazón de pacientes con enfermedad de Chagas. Los anticuerpos contra el *Tripanosoma cruzi* reaccionan contra corazón normal y nervios. Khoury y col (96), utilizando anticuerpos monoclonales contra estreptococos y *Tripanosoma cruzi*, Cunningham y col (97) y Woody y col (98) han probado que éstos reaccionan en forma cruzada contra los tejidos normales.

Autoinmunidad órgano-específica

Casi siempre esta patología se encuentra asociada a la autoinmunidad endocrina, y clínicamente se encuentra relacionada con la afección de una o varias glándulas debido a la presencia de un

autoanticuerpo dirigido contra la membrana celular de los diferentes tejidos glandulares o componentes citoplásmicos de las células. La respuesta inmunológica dirigida contra el determinante antigénico o epítipo del tejido blanco es única, órgano-específica e incluso célula-específica.

Casi simultáneamente con el reconocimiento de los anticuerpos anti-nucleares al comienzo de la década de los 50, Roitt y col (99) en 1956 demostraron la base autoinmune de la tiroiditis de Hashimoto y posteriormente se pudo demostrar este concepto en las gastritis atrófica, anemia perniciosa, enfermedad de Addison y síndrome de Schmidt (100, 101). 18 años después de esta descripción, Botazzo y col (102) demostraron por vez primera la presencia de anticuerpos contra la célula de los islotes (ICA) y posteriormente en 1975 (103) se describieron los anticuerpos contra la hipófisis. Hasta el momento se han descrito anticuerpos contra casi todas las glándulas endocrinas excepto la pineal. La presencia de estos anticuerpos produce en la glándula: síntomas clínicos o subclínicos, infiltración linfo-monocitaria en la glándula correspondiente y alteración de la secreción hormonal (101).

Las endocrinopatías autoinmunes pueden ocurrir solas o en combinación. Se clasifican en dos tipos: tipo I caracterizado por hipoadrenalismo, hipoparatiroidismo idiopático y candidiasis mucocutánea crónica. Tipo II o síndrome de Schmidt que se caracteriza por hipoadrenalismo primario idiopático, diabetes mellitus tipo I, e hipogonadismo primario idiopático (104). En ocasiones en el tipo II se incluye la enfermedad de Graves y la tiroiditis atrofica. Este tipo de patología se asocia con HLA-B8 y DR3 en el caucásico (105). Otras manifestaciones autoinmunes se asocian a las endocrinopatías inmunes tales como vitiligo, miastenia gravis, "enfermedad celíaca", anemia perniciosa y serositis.

La autoinmunidad órgano-específica puede comprometer órganos blancos a través de varios mecanismos:

a) Un proceso destructivo lento. En este tipo de patología el parénquima es invadido por linfocitos

activados y citotóxicos y anticuerpos dirigidos contra determinantes antigénicos de la membrana celular. Como resultado de este tipo de agresión se produce pérdida de los tejidos normales y en ocasiones se reemplaza por tejido conectivo; como consecuencia de ello se produce la pérdida de la función fisiológica. Como ejemplos encontramos anticuerpos contra los enterocitos (EC-Ab) en la enfermedad de Crohn; auto-anticuerpos contra las células de la mucosa, colitis ulcerativa; en la diarrea idiopática, la tiroiditis de Hashimoto, mixedema primario, gastritis fúndica (tipo A), gastritis antral (tipo B), enfermedad de Addison, insuficiencia gonadal, hipoparatiroidismo idiopático, diabetes mellitus autoinmune, vitiligo, alopecia areata y alopecia universal (100-104).

b) Por estimulación de receptores. En este tipo de patología se observa la presencia de anticuerpos que reaccionan contra los receptores hormonales sobre la superficie celular, mimetizando algunos de los efectos de las hormonas tróficas. Como resultado final de este tipo de mecanismo estos anticuerpos tienen la capacidad de producir:

1. Hormonas T3 y T4 con hipertiroidismo en la enfermedad de Graves.
2. Estimulación del crecimiento. Ejemplo: bocio o hiperplasia (99).
3. Producción de péptidos específicos y mediadores químicos (106).

Adams, en 1956 (107), demostró en el suero de un paciente con hipertiroidismo el "long acting thyroid stimulator (LATS)" de la enfermedad de Graves. 30 años después se ha podido documentar un anticuerpo que estimula la glándula tiroides (TSAb), que se encuentra dirigido contra el receptor de TSH (TSH-R), que a la vez mimetiza la acción de la TSH, estimulando la producción de T3 y T4. Doniach en 1976 (108) y Drexhage en 1980 (109) han demostrado la presencia de inmunoglobulinas que producen el crecimiento de los órganos y por ende la formación del bocio.

A nivel del tracto gastrointestinal se han producido auto-anticuerpos que inducen hipersecreción de gastrina y a la vez hipertrofia de las células parietales.

c) Producción de auto-anticuerpos bloqueadores. En este tipo de patología se ha observado la

presencia de anticuerpos que compiten con los receptores hormonales u otros mediadores. Esto se explica a través de la imagen en espejo de la teoría de la red idiotipo-anti-idiotipo. Un ejemplo clásico de este mecanismo es el de mixedema primario en todas las edades, la tiroiditis atrófica y la posibilidad de anticuerpos que atraviesan la placenta y son responsables de algunos de los casos de cretinismo (101, 110-114). Entre otras enfermedades en las cuales se han descrito anticuerpos antibloqueadores, tenemos: diabetes mellitus asociada a acantosis nigricans, anticuerpos contra los receptores de la paratohormona en algunos casos de insuficiencia renal, anticuerpos contra los receptores β adrenérgicos en asma; o los receptores de la acetilcolina en el caso de la miastenia gravis. Anticuerpos contra los receptores de la gastrina (gastritis fúndica), contra los receptores de las gonadotropinas (insuficiencia gonadal).

Uno de los mecanismos implicados en la patogénesis de estas enfermedades es la presencia de anticuerpos anti-receptores, debido a los anticuerpos anti-idiotipo relacionado con la presencia de anticuerpos antirreceptor hormonal. Es decir, el idiotipo del anticuerpo antirreceptor hormonal pudiera ser el sustrato para la generación de anticuerpos anti-idiotipos que tienen la misma imagen del anticuerpo antirreceptor (101, 110-114). En la Figura 8 se explica la teoría de la imagen interna de la red idiotipo-anti-idiotipo y las diferentes enfermedades relacionadas con los anticuerpos antirreceptores.

Alteración aberrante de los antígenos de clase I y II

Estudios realizados por Pujol-Borrell y col en 1983, al utilizar preparados de células tiroideas humanas estimuladas con fitohemaglutinina y otras lectinas, mostraron la propiedad de las células epiteliales o tirocitos de expresar antígenos de clase II que normalmente estas células son HLA clase II negativas.

Simultáneamente Hanafusa y col (116) en 1983, en pacientes con tiroiditis de Hashimoto y enfermedad de Graves, encontraron un incremento en los antígenos de clase I. Estudios realizados por

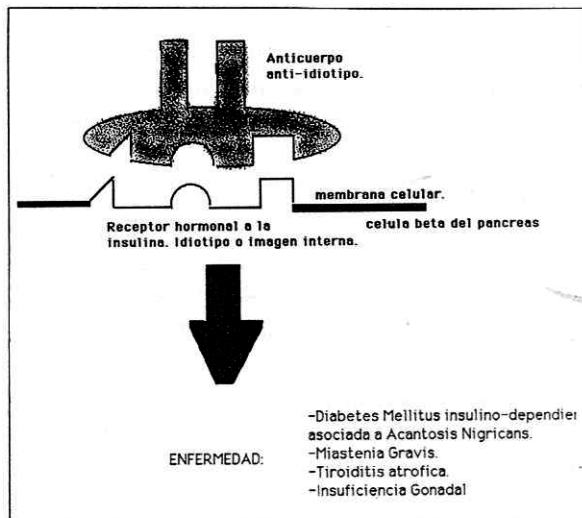


Figura 8. Teoría de la imagen interna de la red idiotípica.

Botazzo y Feldman demostraron que el interfón y (IFN) a la dosis de menos de 1 μ /ml es efectiva en inducir la expresión de antígenos de clase I y II en los tirocitos, sin embargo, ni la IL-2 ni el interferon α (3 incrementan la expresión de dichos antígenos (101, 117). Todd y col (118), utilizando dosis bajas 5 a 10 μ /ml de α -IFN inducen la expresión de DR pero no de las subregiones DP o DQ. Pero si los tirocitos se cultivan con 500 μ /ml de α -IFN se expresan todas las subregiones, es decir, DR, DP y DQ. Utilizando además α -IFN asociado al factor de necrosis tumoral alfa o a la linfotóxina hay expresión de los antígenos de clase II, pero el factor de necrosis tumoral alfa o beta por sí solo induce la expresión de los antígenos de clase II.

Por lo anteriormente analizado, se plantea la posibilidad de que una inapropiada expresión de las moléculas de clase II por las células epiteliales, sea capaz por sí misma de expresar sus moléculas de superficie y de esta manera simular ser célula presentadora de antígeno, lo que provocaría la producción de células T reactivas, causando el efecto inflamatorio.

Botazzo, Londei y Feldman (101, 115-121) describen tres tipos de enfermedades en las cuales existe una expresión aberrante de los antígenos de clase I y II. Un primer grupo conformado por endocrinopatías autoinmunes que afectan la glándula tiroidea y el páncreas (tiroiditis autoinmune y

diabetes mellitus insulino dependiente). Un segundo grupo lo conforman las enfermedades inflamatorias del intestino y un tercer grupo en el cual existen anticuerpos órgano-específico contra las mitocondrias en la cirrosis biliar primaria y contra las ribonucleoproteínas Ro/SS-A y La/SS-B en el síndrome de Sjögren primario. En estas enfermedades es posible que las células ductales epiteliales expresen antígenos mitocondriales en la superficie celular.

Finalmente la expresión aberrante de las moléculas de clase II por los órganos blancos de los antígenos de clase I y II y la complejidad de la regulación epitelial de la expresión de los antígenos de clase I y II, explican la heterogeneidad del curso clínico de estas enfermedades. Es posible que exista un factor iniciador que no conocemos, causal de la expresión aberrante de dichos antígenos y del trastorno de la inmunorregulación.

Anticuerpos antinucleares y antígenos nucleares extraíbles

El objetivo de involucrar algunos antígenos como los filamentos intermedios, los anticuerpos antinucleares, los antígenos nucleares extraíbles y la cardiolipina dentro de esta revisión, tiene una connotación más que histórica pues existe una relación estrecha entre estos dos antígenos y las moléculas de clase I y II y los serotipos del complemento (122).

¿Qué son los anticuerpos antinucleares (ANA)? Es pregunta habitual de los estudiantes, médicos y residentes cuando están frente a una enfermedad autoinmune. Desde hace 40 años, uno de los objetivos de la investigación ha sido determinar la especificidad de estos anticuerpos para delinear un grupo o subgrupo de enfermedades, y así de esta manera se desarrollaron una variedad de pruebas serológicas para la detección de estos anticuerpos.

¿Cuál es el papel de este antígeno y su interacción con los antígenos de clase I y II? Precisamente este antígeno o antígenos, son el blanco de los anticuerpos y de esta manera se forman los complejos inmunes circulantes que tienen un papel patogénico en la expresión de enfermedades como lupus, enfermedad mixta, etc., en un individuo

genéticamente susceptible.

Así de esta forma surge la célula LE, siendo la primera prueba serológica para la detección del lupus (123). Su origen se remonta a 1945, cuando Hargraves de la Mayo Clinic, visitó a Scheicher y Sharp del Minneapolis General Hospital y les enseñó una técnica para encontrar células de la médula ósea; y en 1948 con Morton, un residente de medicina, publicó la descripción de la célula LE utilizando para ello la técnica de la concentración e incubación y no el examen directo. Haserick (124) descubrió que el suero de pacientes con lupus producía el fenómeno LE cuando se incubaba con médula ósea normal; posteriormente se emplearon polimorfonucleares. En un artículo clásico, Coons y Kaplan (125) en 1950, demostraron que el antígeno podía ser detectado por anticuerpos fluorescentes. En 1957 Friou (126) y col y Bardawil y col (127) escribieron un artículo demostrando la aplicación clínica de los anticuerpos fluorescentes o del ANA (FANA). En 1961 Beck (128) describe los diferentes patrones de inmunofluorescencia. Estos estudios de los anticuerpos antinucleares marcaron un hito histórico en el desarrollo y conocimiento de las enfermedades autoinmunes.

Otro tipo de antígeno fue reconocido en 1959 por Deicher, Holman y Kunke (129), utilizando técnicas de inmunodifusión, detectaron los antígenos nucleares extraíbles o ENA. Posteriormente se emplearon métodos bioquímicos como proteasas y nucleasas para digerir antígenos; esto se realizó como un medio para determinar si los antígenos de interés reaccionaban con proteínas y ácidos nucleicos, por ello se logró demostrar que la mayoría de los anticuerpos de interés reaccionaban contra proteínas, y así se demostró que la ribonucleoproteína o RNP era un antígeno sensible a la ribonucleasa, mientras que el antígeno Sm (antígeno Smith de un individuo con lupus) no era sensible (130).

A pesar de los grandes avances de la inmunología poco se sabía acerca de la función de estos antígenos que reaccionaban con los anticuerpos; sólo hasta 1979 Lemer y Steitz (131) utilizaron suero de pacientes que inmunoprecipitaba con

antígenos radiomarcados. En este procedimiento el RNA se marcó con P32 y la proteína con sulfuro de metionina 35; se logró documentar que la mayor parte de los ENA está conformada por RNA y ribonucleoproteína. La subdividieron en dos grupos: Snurps = (Small nuclear ribonucleoproteins) y el otro grupo Scyrps = (Small cytoplasmic ribonucleoproteins).

Usualmente el anticuerpo reacciona contra el determinante antigénico sobre el componente proteico de esas partículas o sus complejos. Por ejemplo, el Snurp es la partícula que porta el determinante RNP, y está compuesto de una sola pieza de RNA llamada U1, la cual se encuentra rodeada de nueve proteínas denominadas 68K, A, B, B', C, D, E, F, G. Generalmente los anticuerpos anti-RNP reaccionan con la proteína 68K, A y C del Snurp (131-134).

El antígeno Sm se encuentra usualmente sobre la proteína B y B' de una serie de Snurps. Los Snurps que llevan el antígeno Sm contienen los RNA llamados U1, U2, U4, U5 y U6. Parece que la partícula a la cual se une el anticuerpo anti-RNP es un subgrupo de las partículas a las cuales se une el anti-Sm (135). Otra serie de antígenos ENA son el Ro y La que antiguamente se conocían como Ro/SS-A y La/SS-B que se encuentran presentes en un complejo de RNA y proteína. Posiblemente las partículas Ro y La están comprometidas en el procesamiento del RNA del núcleo al citoplasma. La nucleoproteína La es una fosfoproteína que se asocia con la transcripción de la RNA III polimerasa. Se ha demostrado que algunos autoantígenos SJT, SS-B y Ha, son autoantígenos determinantes que se encuentran en la porción proteica de la molécula, son macromoléculas similares al antígeno La (136, 137).

A continuación elaboramos una lista de algunos antígenos que se encuentran definidos y que hacen parte de algunas entidades clínicas y que se asocian a diferentes isotipos de las moléculas de clase I y II (Tabla 8).

Red de idiotipos anti-idiotipos

De acuerdo con la teoría de Jerne, uno de los problemas en el proceso de la inmunorregulación

ha sido la diversidad de las regiones variables, en las cuales los idiotipos pueden mimetizar la estructura de las moléculas antigénicas aparentemente no relacionadas. Un ejemplo de ello es el siguiente: el sitio de combinación del anticuerpo A es complementario a una estructura en el antígeno inmunizante y a la vez el sitio de combinación del antígeno B es complementario al anti-

cuerpo A; por ello el anticuerpo B puede parecer una estructura sobre el antígeno inmunizante, un claro ejemplo de ello son los anticuerpos anti-insulina. Se ha demostrado que los anti-idiotipos o el anticuerpo B, contra los anticuerpos anti-insulina AbA se unen al receptor de la insulina y así de esta manera se estimula la glicólisis. Aparentemente la región variable de los anti-idiotipos es

Tabla 8. Algunos antígenos contra los cuales se producen anticuerpos en determinadas entidades clínicas asociadas a diferentes iso tipos de las moléculas clase I y II.

Antígeno	Estructura y función	Enfermedad	Antígeno	Estructura y función	Enfermedad
d-DNA	Acido nucleico	LES (50%)	4s-6s RNA	RNA nucleolar	Esclerodermia (50%)
s-DNA	Acid nucleico	LES (70%) A.R. Lupus sec drogas	Centriolo	División celular	Esclerodermia
Histona	Cromatina	LES (70%) LES inducido por drogas 90%	Laminina nuclear	Membrana nuclear	Esclerodermia lineal
Sm	Procesamiento RNA	LES (30%)	PM-1	?	Polimiositis (10 a 50%)
RNA polimerasa I	Transcripción RNA	LES A.R. Enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC)	Mi	?	Polimiositis
RNA Ribosomal	Traslación de proteínas	LES (10%)	Jo-1	Histidil tRNA sintetasa	Polimiositis (30%)
RNP	Unión del RNA	LES (30%) EMTC (100%) Esclerodermia	PL-7	Treonil RNA sintetasa	Polimiositis
U1/U2Snutp	Unión del RNA	Fenómeno de Raynaud Psoriasis	Mitocondria	Transducción de energía	Cirrosis biliar primaria, Polimialgia Reumática
U2 Snutp	Procesamiento RNA	Polimiositis Esclerodermia	Centrómero	División celular	S de CREST, Cirrosis biliar primaria
La	RNA Polimerasa IKK Transcripción	LES (20%) S de Sicca (70%)	Me	Complejo macromolecul RNP-Sm ?	Enfermedad indiferencia da del tejido conjuntivo
Ro	Procesamiento RNA ?	LES (30%) S. de Sicca (70%) Bloqueo cardíaco tipo congénito	M2	?	Cirrosis biliar primaria (90-95%)
Ga		Lupus	Antígeno mitocondrial	?	Curso agresivo. Cirrosis biliar primaria
Ma	?	Lupus (20%)	M8-M2	?	Sífilis
PCNA (Proliferating cell nuclear antigen)	División celular	Lupus S de Sicca (10%)	Mi	?	Alteraciones inducidas por medicamentos
Protein Kinasa II	Activación de la RNA polimerasa I	Lupus EMTC	M3-M6	?	Enf. cardíaca
Vimentina	Filamento intermedio	Lupus	M7	?	Colitis ulcerativa
Desmina	Citoesqueleto	Lupus	Gliadina A y Adenovirus		Enfermedad desmielinizante
Scl-70	Topoisomerasa I	Esclerodermia CREST (20%)	MBP		Fiebre reumática
			Miosina cardíaca. Proteína M del estreptococo		S Guillian Barre
			Mielina periférica		Hipoglicemia autoinmune sec a lupus, Sjögren primario, Ataxia, Telangiectasia
			Insulina	Anticuerpo contra insulina	

parecida a algún segmento o polipéptido de la molécula de insulina y la región variable del anticuerpo B es considerada como una manifestación de una imagen interna del antígeno externo (139-141) (Figura 9).

Vacunas anti-idiotípicas

El principio del mimetismo idiotípico pudiera utilizarse como un método de inmunización, ya que puede simular un antígeno microbiano. Un anti-idiotipo podría ser utilizado como vacuna, que tendría la ventaja importante de no contener un agente infeccioso; además de la facilidad de producir grandes cantidades a través de los anticuerpos monoclonales anti-idiotípicos. Estos anticuerpos pueden inducir una respuesta efectiva de células T, más que un virus inactivo. Finalmente, los anti-idiotipos pueden mimetizar determinantes antigénicos selectivos que pueden ser construidos por ingeniería genética (138, 142). Una de las vacunas anti-idiotípicas desarrollada ha sido contra el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (142).

Los anti-idiotipos se pueden utilizar como inmunoterapia de los cánceres de células B, cuyas inmunoglobulinas a nivel de la superficie celular expresarían idiotipos privados. Un anti-idiotipo puede unirse específicamente al idiotipo y causar inhibición del crecimiento o lisis del tumor sin afectar los tejidos normales. En los cánceres de células B humanas, los anticuerpos anti-idiotípicos han sido utilizados en leucemia linfocítica aguda y crónica y en linfomas (142).

Las cardiolípinas

Ciertos eventos trombóticos son más comunes, en un subgrupo de pacientes con lupus, que tienen VDRL falso positivo (143). Desde 1952, varios grupos de investigadores han descrito casos de lupus con anticoagulantes circulantes de tipo adquirido. Este anticoagulante lúpico se demostró, era una inmunoglobulina que prolonga el tiempo parcial de tromboplastina y menos frecuentemente el tiempo de protrombina, por interferir con el complejo activador de la protrombina. Este anticuerpo se encontró en los pacientes con lupus que

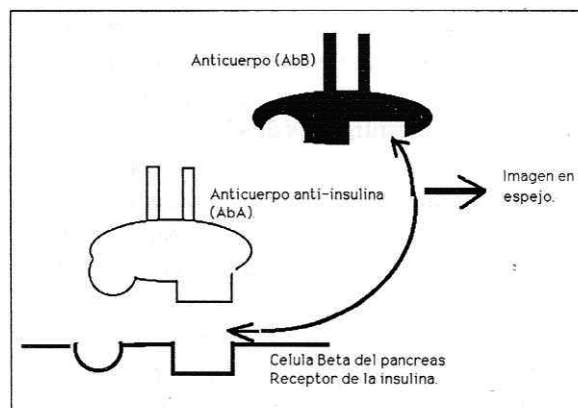


Figura 9. Célula Beta del páncreas. Receptor de la insulina.

tenían VDRL + llamaba la atención que tenían paradójicamente una tendencia a la trombosis y no a la hemorragia (144-146). La presencia de estos anticuerpos anticardiolípinas predispone a las pacientes a presentar abortos espontáneos recurrentes, muerte fetal in útero, trombocitopenia, síndrome de Evans, síndrome de Snedon, hipertensión pulmonar y enfermedad neurológica asociada al lupus.

En 1983, Harris y col purificaron la cardiolípinina y desarrollaron un radioinmunoensayo de fase sólida para la detección de anticuerpos anti-cardiolipina que es 200 a 400 veces más sensible que el VDRL. Inoue y col (150) notaron ciertas similitudes estéricas entre la cardiolípinina y el sostén de la unión azúcar-fosfato del DNA por lo cual pensaron que los sueros de los pacientes tenían una reacción cruzada con los anticuerpos anti-nucleares, los cuales son responsables del VDRL falso positivo. La presencia de este anticuerpo en los pacientes con lupus se hereda en un subgrupo de pacientes que constituyen el denominado síndrome de anticardiolípinina.

CONCLUSIONES

En este último capítulo hemos analizado los mecanismos asociados a diferentes moléculas de clase I, II y III, haplotipos extendidos en los cuales intervienen distintos mecanismos asociados y a la vez participan antígenos en la expresión de la enfermedad.

Entre los mecanismos analizados que expresan antígenos o epitopes, que a la vez son los blancos

de anticuerpos naturales son el mimetismo molecular, la autoinmunidad órgano-específica y los diferentes mecanismos asociados; la alteración aberrante de los antígenos de clase I y II, el ANA, el ENA, la red de idiotipos-anti-idiotipos y las cardiolipinas como causales de enfermedad. A través del análisis de los diferentes mecanismos implicados podemos observar que algunos factores del huésped determinan: 1. El tipo de enfermedad y la respuesta clínica y el tiempo en el cual un individuo pudiera ser susceptible por un antígeno determinado genéticamente. 2. Ciertos epítopes de las moléculas del HLA participan en la predisposición a una enfermedad determinada. 3. El procesamiento de los diferentes antígenos por las células presentadoras de antígenos y la subsecuente interacción entre los pequeños péptidos, las moléculas de clase I y II y el receptor de las células T, son etapas diferentes pero algunas enfermedades podrían estar relacionadas con alguna alteración en algunas de las etapas. 4. Es posible que el antígeno desencadenante de una enfermedad, esté relacionado con haplotipos determinados que pueden variar en algunos aminoácidos de acuerdo al grupo étnico estudiado y tener la enfermedad un comportamiento diferente. 5. Es fundamental para las futuras investigaciones, tratar de identificar el antígeno blanco y los otros genes comprometidos en la susceptibilidad para entender mejor la patogénesis de las enfermedades antes mencionadas. 6- La susceptibilidad de la mayoría de las enfermedades reumáticas tiene una fuerte influencia de los genotipos del HLA y el tipo de herencia usualmente es poligénica. 7. Con las tecnologías del DNA recombinante y su aplicabilidad en la comprensión de estas enfermedades, va a producirse una ayuda valiosa en el diagnóstico y tratamiento de ellas. 8. El entendimiento de las enfermedades asociadas al HLA se ha retardado por la carencia de modelos en animales pero la tecnología transgénica disponible es una oportunidad para alcanzar un mejor conocimiento de las enfermedades, y de esta manera se pensara en el futuro en la posibilidad de curación de muchas entidades crónicas para las cuales sólo disponemos de tratamiento paliativo en la actualidad.

Nueva nomenclatura de los antígenos de los leucocitos y nuevos alelos de los genes del CMH adoptados en el X Taller Internacional de Histocompatibilidad

El comité de nomenclatura del último taller de histocompatibilidad revisó y adicionó nuevas especificidades, identificadas por pruebas serológicas y técnicas celulares. También denominó nuevos genes evidenciados por las novedosas técnicas de biología molecular. Para ello se basaron en las reglas establecidas en previos talleres (151-156).

Sólo se consideraron cambios en los nombres de los productos de los genes de los antígenos de clase I y II.

Los datos provenientes del análisis molecular han logrado definir e identificar el orden de los genes en la región HLA. Se concluyó que estos nuevos alelos que se expresan en la región HLA-D se les pudiera designar en forma oficial sin deslindarse de las reglas ya establecidas y revisadas en los capítulos anteriores. Todos los genes en esta región son denominados con la letra D como prefijo y les agregan las letras R, P, Q para designar la subregión (subregión DR, DP y DQ). Se agregan las letras A o B para nominar la cadena α o β , o la secuencia relacionada en el caso de los llamados pseudogenes. A lo anterior se le debe agregar un número cuando hay más de un gen α o β . De esta manera el gen de la cadena α en la región DQ se denominó HLA-DQA1. Las dos nuevas subregiones se denominaron DO (inicialmente conocida como DO) y DN (anteriormente llamada DZ o DO). La lista completa de los nuevos genes con su designación previa se halla en la Tabla 9. El orden de los genes se muestra en una forma esquemática en la Figura 10.

Se debe destacar que los datos de la secuencia nucleotídica han definido una amplia variedad de alelos. Muchas veces estos alelos corresponden a una sola especificidad definida previamente por técnicas serológicas o celulares. Esto ha permitido una nueva definición del alelo que se considera hoy en día como *la secuencia nucleotídica del gen incluyendo los intrones*. Sin embargo, en la práctica es más importante el producto génico y su función. De esta forma podemos considerar que

Tabla 9. Nuevas denominaciones para los genes de la región HLA

Nombre	Denominación anterior	Características moleculares
HLA-E 6.2 K	E, "6.2"	Fragmento de restricción producido por la enzima Hind III asociado con clase I
HLA-DRA	DR alfa	Cadena alfa del DR
HLA-DRB1	DRbeta1.DR1B	DR beta1 - DR1, DR3, DR4, DR5, etc.
HLA-DRB2	DR*beta33, DR2B	Seudogen con secuencia parecida al DRbeta
HLA-DRB 3	DR*beta41, DR3B	DRbeta3 del DRw52 y Dw24, Dw25, Dw26
HLA-DRB4	DRbeta4V, DR4B	DRbeta4 del DRw53
HLA-DQA1	DQalfa1.DQ1A	Cadena DQ alfa
HLA-DQB1	DQbeta1, DQ1B	Cadena DQ beta
HLA-DQA2	DXalfa, DQ2a	Secuencia relacionada con la cadena alfa del DQ
HLA-DQB2	DXbeta, DQ2B	Secuencia relacionada con la cadena beta del DQ.
HLA-DOD	DObeta	Cadena DO beta
HLA-DNA	DZalfa	Cadena DN alfa
HLA-DPA1	DPalfa1.DP1A	Cadena DP alfa
HLA-DPB1	DPbeta1.DP1B	Cadena DP beta
HLA-DPA2	DPalfa2,DP2A	Cadena DP alfa
HLA-DPB2	DPbeta2,DP2B	Cadena DP beta

una definición más adecuada para un alelo se basa en la secuencia aminopeptídica de la proteína codificada por un gen determinado.

A cada alelo así definido se le dio un número, el cual se colocó después de un asterisco a continuación de la denominación del gen. Cada alelo se identificó con cuatro dígitos de acuerdo con las siguientes reglas: los primeros dos dígitos describen la especificidad más cercana y los otros dos identifican al alelo. De esta forma se intenta tanto como sea posible mantener la relación entre el alelo y la especificidad serológica. Un ejemplo de esto se relaciona con la especificidad del B27 para correlacionar los hallazgos de isoelectroenfoque de los clones de linfocitos T y de la secuencia peptídica: HLA-B*2701. Esta misma denominación se aceptó para los antígenos de clase I. En las tablas 10 y 11 se muestran los nuevos nombres para algunos alelos de los loci HLA-A, HLA-B y HLA-D. Las especificidades o los productos génicos obtenidos a través de las metodologías del "polimorfismo de la longitud de los segmentos de restricción" (RFLP), y del isoelectroenfoque en una o en dos dimensiones se consideraron de mucha ayuda para definir fenotipos y genotipos tanto de las especificidades conocidas como de las nuevas, pero se concluyó que ellas no contribuían mucho a la designación formal. Esto podrá ser de mucho valor en el futuro cuando se comparen haplotipos relacionados y agrupados en patrones definidos por el polimorfismo de la longitud de los segmen-

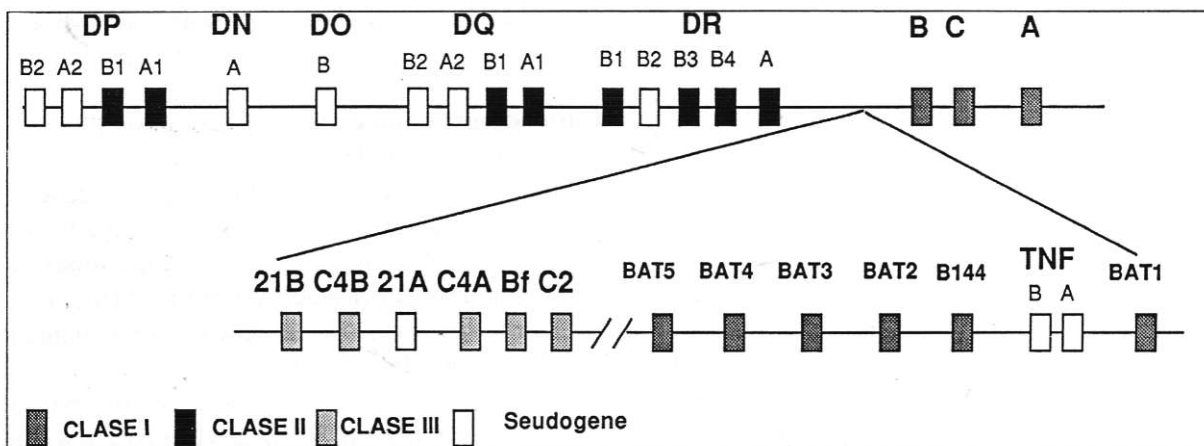


Figura 10. Genes del complejo mayor de histocompatibilidad.

Tabla 10. Nuevas especificidades de los alelos de los loci HLA-A y HLA-B

Nueva previa designación	Especificidad	Variante	Denominación Por "KEF"
A *0201	A2	A2.1	A2.2Q3)
A *0202	A2	A2.2	A2.1/A2.4 (13)
A *0203	A2	A2.3	A2.3?(13)
A , 0204	A2	A2.4	A2.3?(13)
B *0701	B7	B7.1	(16)
B , 0702	B7	V7.2	
B , 2701	B27	27.1	27f (18)
B *2702	B27	27.2	27e (18), 27K (19), B27.2 (20)
B *2703	B27	27.3	27d (18), 27J (19)
B *2704	B27	27.4	27b (18), 27C (19), B27.3 (20)
B , 2705	B27	27.5	27a(18),27W(19),B27.1 (20)
B , 2706	B27	27.6	—,27D(19)

, Procedimiento realizado en el X Taller Internacional.

Tabla 11. Nuevas denominaciones de los alelos de la región HLA-D.

Nueva denominación	Especificidad	Especificidad asociada con HLA-D
DRB1 , 0401	DR4	Dw4
DRB1 *0402	"DR4	Dw32
DRB1 , 0403	DR4	Dw13
DRB1 , 0404	DR4	Dw14
DRB1 , 0405	DR4	Dw15
DRB4 , 0101	DRy 33	Dw4, Dw32, Dw13, Dw14, Dw15, Dw17, Dw23

Tabla 12. Nuevas denominaciones de los alelos HLA-A.B y C.

Nueva denominación	Previa definición
Aw74	Th, Aw19 related
Bw75	Bw62.1 (15)
Bw76	15S, 15.4
Bw77	17T, 15.2
Cw9	Cw3.1, Bw55 associated
Cw32	Cw3.2, Bw60 associated
Cw11	Cx46, Cw1+3

tos. Mientras tanto se recomendó la adopción de un sistema informal de denominación de estos grupos de especificidades estimatizándolos con el prefijo w.(331)

Las técnicas bioquímicas tratan en lo posible de soportar el concepto de las nuevas especificidades. Quizá su principal valor sea definir aquellas especificidades estrechamente relacionadas a nivel molecular (secuencia de aminoácidos), sin embargo, las técnicas serológicas continúan siendo las más delineadas y utilizadas en la histotipificación.

Nuevas especificidades de los antígenos de clase I

Continuando con lo establecido, las especificidades de los loci HLA-A y HLA-B se definen agregando un número a la denominación del gen. En la Tabla 12 se muestran las denominaciones nuevas y transitorias para los alelos de estos loci. Aw74 es la única nueva especificidad del locus HLA-A. Esta es una división del Aw19 que se encontró principalmente en la población negra norteamericana. Se identificaron tres nuevas especificidades dentro del loci HLA-B: el Bw75, Bw76 y Bw77 las cuales son divisiones del B15, del Bw62.1 y una nueva versión del Bw62, la cual se encontró tanto en caucásicos como en orientales. Esta última especificidad tiene reactividad cruzada con el Bw35. El Bw76 se encuentra principalmente en la población tailandesa y hace reactividad cruzada con el B45. Tanto el Bw75 como el Bw76 están asociados con el "Bw8.

Dentro del locus HLA-C se identificaron otras tres nuevas especificidades, ellas son: HLA-Cw9, HLA-Cw32 y el Cw11. Las dos primeras son divisiones del Cw3. El Cw11 está asociado con el Bw46.

Cambios en la nomenclatura de loci de la región D

No se definieron nuevas especificidades de los alelos del locus HLA-DP. Esto se puede explicar debido a que hubo muy pocos anticuerpos disponibles para su identificación y dentro del taller no se utilizó el panel de los "linfocitos T previamente sensibilizados" (PLT Testing).

Se asignaron cuatro nuevas especificidades dentro del locus DR: HLA-DR15, DRw16, DRw17 y el DRw18. El DRw15 y el DRw38 son divisio-

nes del HLA-DR2. El DRw17 incluye la mayor parte de las especificidades originalmente definidas dentro del DR3 las cuales en general se encuentran asociadas con el DQw2. El DR18 es una pequeña especificidad del DR3 que se encuentra en la población blanca.

A los alelos del locus DQ se le asignaron seis nuevas y transitorias especificidades. Es de anotar que la mayoría de estas especificidades se identificaron utilizando anticuerpos monoclonales. Ellas se muestran en la Tabla 13.

Nuevas especificidades del loci HLA-D definidas por técnicas celulares

En adición a las técnicas que emplean las células homocigotes para tipificar los alelos de este loci, recientemente se han utilizado otras metodologías tales como el clonaje de los linfocitos T citotóxicos (PTLc y CTLc). Estas nuevas designaciones se muestran también en la Tabla 13, al igual que una lista completa de las especificidades reconocidas hasta el momento.

La tecnología recombinante del ácido deoxirribonucleico; su aplicación en inmunogenética

En el período comprendido entre 1967 y 1972, tres descubrimientos hicieron posible un enorme avance en la investigación de los desórdenes clínicos, y por consiguiente en su tratamiento. El primero de ellos fue el descubrimiento de la endonucleasa de restricción que es una enzima bacteriana que produce, por medio de la digestión enzimática, pequeños fragmentos de ácido deoxirribonucleico (ADN). El segundo fue el descubrimiento de las ligasas, enzimas que tienen la facultad de unir segmentos de ADN y, el tercero, fue la construcción de una molécula de ADN mediante la unión de un segmento de ADN humano al ADN de un plásmido para formar "un organismo" capaz de reproducirse en bacterias. Estos tres pilares del desarrollo tecnológico hicieron posible el clonaje del ADN humano y establecieron las bases para el desarrollo de la metodología del aislamiento y la ampliación en el estudio de los genes.

Desde comienzos de la época de los 70 se pro-

Tabla 13. Lista completa de todas las especificidades reconocidas hasta la fecha del sistema HLA.

A	B	E	D	DR	DQ	DP
A1	B5	Cw1	Dw1	DR1	DQw1	DPw1
A2	B7	Cw2	Dw2	DR2	DQw2	DPw2
A3	B8	Cw3	Dw3	DR3	DQw3	DPw3
A9	B12	Cw4	Dw4	DR4	DQw4	DPw4
A32	B13	Cw5	Dw5	DR5	DQw5 (w1)	DPw5
A33	B14	Cw6	Dw6	DRw6	DQw6 (w1)	DPw6
Aw19	B15	Cw7	Dw7	DR7	DQw7(w3)	
A23(9)	B16	Cw8	Dw8	DRw8	DQw8 (3)	
A24 (9)	B17	Cw9 (w3)	Dw9	DR9	DQw9 (w3)	
A25(10)	B18	Cw10(w3)	Dw32	DRw32		
A26 (10)	B21	Cw11	Dw11 (w7)	DRw11 (5)		
A28	Bw22		Dw12	DRw12		
A29 (w19)	B27		Dw13	DRw13 (w6)		
A30(w19)	B35		Dw14	DRw14 (w6)		
A31(w19)	B37		Dw15	DRw15 (2)		
A32 (w19)	B38 (16)		Dw16	DRw16 (2)		
Aw33 (w19)	B39 (16)		Dw17 (w7)	DRw17 (3)		
Aw34 (10)	B40		Dw18(w6)	DRw18 (3)		
Aw36	Bw41		Dw19(w6)			
Aw43	Bw42		Dw20	DRw52		
Aw66 (10)	B44 (12)		Dw21			
Aw68 (28)	B45 (12)		Dw22	DRw53		
Aw69 (28)	Bw46		Dw23			
Aw74 (w49)	Bw47		Dw24			
	Bw48		Dw25			
	B49 (21)		Dw26			
	Bw50 (21)					
	B51 (5)					
	Bw52 (5)					
	Bw53					
	Bw54 (w22)					
	Bw55 (w22)					
	Bw56 (w22)					
	Bw57 (17)					
	Bw58 (17)					
	Bw59					
	Bw60 (w40)					
	Bw61 (w40)					
	Bw62 (15)					
	Bw63 (15)					
	Bw64 (14)					
	Bw65 (14)					
	Bw67					
	Bw70					
	Bw71 (w70)					
	Bw72(w70)					
	Bw73					
	Bw75 (15)					
	Bw76(15)					
	Bw77 (15)					
	Bw4					
	Bw6					

dujo el acelerado desarrollo del estudio del genoma humano, tanto en su estructura como en su función. Inicialmente, la secuencia nucleotídica del material genómico se pudo estudiar a través de

métodos indirectos, tales como la secuencia de aminoácidos dentro de una proteína o la secuencia nucleotídica del ácido ribonucleico. Hoy la situación ha cambiado completamente; ahora es posible el estudio específico del ADN humano mediante técnicas moleculares haciendo posible el entendimiento de los complejos mecanismos por medio de los cuales el genoma humano controla el comportamiento biológico y funcional del hombre (158).

La tecnología del ADN recombinante comprende una mezcla de técnicas, algunas novedosas y otras en desarrollo desde mucho tiempo atrás. Quizás las más importantes son: la fragmentación del ADN con enzimas de restricción, la hibridización del material nuclear en estudio, utilizando para ello secuencias nucleotídicas, conocidas las cuales se han marcado con material radiactivo (sonda de ADN) que hacen posible la identificación de las secuencias específicas del ADN o del ARN y el clonaje del ADN. En esta última, un fragmento específico del ADN se integra a un material genómico en replicación acelerada, Ej. un plásmido o un virus. De tal manera, este último al inocularse a una bacteria o a una levadura se reproduce y se amplifica. Finalmente el estudio de la secuencia de los nucleótidos en un fragmento clonado de ADN ha permitido el estudio estructural del genoma; así, de esta manera, se logró extrapolar el reconocimiento estructural del genoma al diagnóstico de algunas enfermedades (159). De todas las técnicas anteriormente descritas quizás la manipulación y el análisis del ADN por las técnicas denominadas "blotting" son las que tienen más aplicación en el estudio de la estructura y función del sistema HLA. Las más usadas son las siguientes: el uso de las enzimas de restricción, la separación de los segmentos de ADN por métodos electroforéticos, la transferencia de estos fragmentos a filtros de nitrocelulosa o membranas de nylon, la hibridización de estos fragmentos utilizando sondas de ADN marcadas con material radiactivo, el aislamiento y clonaje de los fragmentos útiles para el estudio, la localización de un fragmento específico en una posición singular dentro de un cromosoma dado.

Enzimas de restricción. Las endonucleasas de restricción son enzimas, producidas por bacterias, cuya función biológica es proteger a estos microorganismos de la invasión por ADN extraño (160). Estas enzimas son capaces de cortar al ADN en sitios específicos de aproximadamente cuatro a seis nucleótidos de longitud al reconocer una secuencia específica, produciendo pequeños fragmentos de ADN denominados fragmentos de restricción. Muchas de estas enzimas han sido purificadas de diferentes especies bacterianas y en la actualidad existen más de 100 de ellas en el comercio. Comparando el tamaño de los fragmentos del ADN que se producen sobre una región genética, en particular después del uso de una combinación de diferentes endonucleasas de restricción se puede conformar un mapa de restricción genético para mostrar la localización de los posibles alelos en un gen determinado. Los patrones de fragmentos generados por las enzimas de restricción serán idénticos en todos los alelos de un individuo y aun entre diferentes individuos; lo anterior indica una homología en la secuencia de las bases del ADN, sin embargo, este mapa de restricción puede variar si la secuencia es ligeramente distinta como es el caso de los individuos con distintos alelos, mutaciones, deleciones, inversiones e inserciones (161). Las variaciones de los patrones que se generan reflejan el polimorfismo de una región genómica dada. El estudio por medio del cual se consiguen estas diferencias en el genoma humano se ha denominado "estudio del polimorfismo genético basado en la longitud de los fragmentos de restricción". PLFR (traducido de las siglas en inglés, RFLP) (161).

Hibridización de los ácidos nucleicos con sondas de ADN complementarias. Se define como el proceso en el cual un segmento genómico se introduce en una secuencia de nucleótidos específica. Por medio de este procedimiento se puede identificar y aislar un gen específico. Se debe recordar que una cadena de ADN o una molécula de RNA siempre se aparean con una segunda cadena que posee una secuencia complementaria con la primera; este apareamiento ocurre aun en el evento que las cadenas no sean completamente

homólogas y sólo se requiere que un 70% de sus bases sean complementarias. Una sonda de ADN se obtiene cuando la enzima DNA sintetasa-transcriptasa reversa del ARN sintetiza una secuencia de ADN complementaria (cADN), de tal manera que la secuencia nucleotídica del cADN es complementaria a la secuencia nucleotídica del ARN, por ejemplo una secuencia CCG (citosina citosina guanina) en el ARN se complementara con una secuencia (sintetizada por la enzima) GGC (guanina guanina citosina) en la cADN (162). Para evidenciar la hibridización se le debe adicionar un marcador a la sonda de ADN, la mayoría de las veces fósforo radiactivo (^{32}P). La hibridización se lleva a cabo sobre el ADN celular después de que en éste se han separado sus dos bandas por medio de algún procedimiento; un ejemplo es el uso de altas temperaturas permitiendo así el acoplamiento del cADN a la secuencia complementaria específica en el ADN. El procedimiento más utilizado en la hibridización del ADN es el Southern Blot (163).

Las técnicas del polimorfismo de la longitud de los segmentos de restricción y Southern Blot se han aplicado en una forma amplia al estudio de los antígenos de histocompatibilidad y al análisis de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Básicamente esta técnica consiste en: extracción y purificación del ADN provenientes de las muestras a estudiar, la digestión enzimática del ADN utilizando endonucleasas de restricción, la fragmentación y separación de los fragmentos por medio de la electroforesis en geles de agarosa, la transferencia de estos fragmentos a un soporte sólido (las más utilizadas son las membranas de nylon y nitrocelulosa), la hibridización de la membrana utilizando cADN marcadas y, finalmente, la visualización de los fragmentos a los cuales se le ha unido el cADN por medio de la autorradiografía (si la sonda ha sido marcada con ^{32}P), o por un sistema de detección colorimétrica como cuando se utiliza biotina-avidina, este último es el denominado protocolo de hibridización con materiales no radiactivos. Cuando la técnica que se emplea es la autorradiografía, el análisis de los resultados se evidenciará con base en un pa-

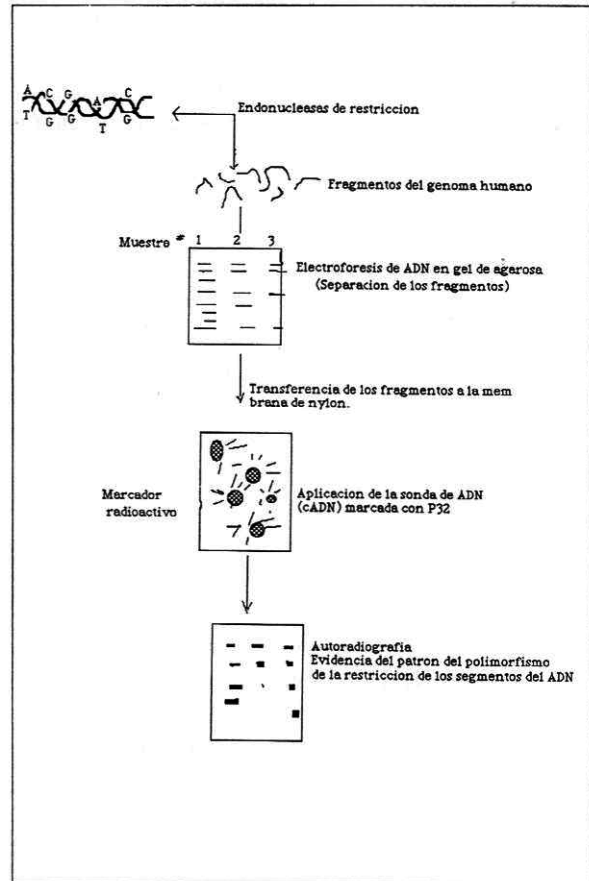


Figura 11. La metodología del "Southern Blot". Una visión esquemática.

trón de bandas, las cuales aparecerán en la película de rayos X. La Figura 11 muestra en forma esquemática el procedimiento.

El polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción se hereda en forma mendeliana, de tal manera que sirve no solamente para distinguir a dos individuos genéticamente diferentes sino también para determinar la verdadera relación biológica entre dos o más individuos.

En los últimos cinco años, debido a la gran cantidad de sondas que se han obtenido, alrededor de 1.000 (164) se ha podido identificar un alto grado de polimorfismo en loci de los genes.

El uso de las sondas de ADN en las pruebas de paternidad responsable. Este procedimiento se puede llevar a cabo a partir de 32cc de sangre periférica de cada uno de los miembros a estudiar.

Para llevar a cabo esta prueba se requiere analizar muestras de ADN provenientes de la madre, el niño y del supuesto padre. También es necesario incluir un control positivo que debe ser proveniente de un individuo de quien se conoce el polimorfismo de la longitud de sus fragmentos de restricción; es necesario también incluir marcadores de los cuales se conocen sus pesos moleculares y sirven como guía para determinar el peso molecular de cada uno de los fragmentos a estudiar. También debe incluirse una mezcla de ADN proveniente del niño y del padre para determinar si algunos de los fragmentos que parecen ser de tamaño similar son en realidad los mismos alelos.

Los procedimientos estandarizados permiten tener un alto control en el análisis de los estudios del ADN (164, 165). En forma muy generalizada se puede decir que la prueba resultaría negativa si el patrón de restricción del niño revela una banda, la cual no se detecta en ninguno de los dos padres (Figura 12A). La prueba se considera positiva cuando varias o todas las bandas del patrón de restricción del niño son iguales a la de los padres (Figura 12B). El cálculo de las probabilidades de las diferentes combinaciones a través del análisis estadístico, así como también el índice de paternidad se obtienen aplicando una serie de fórmulas establecidas y definidas por el comité de nomenclatura del taller internacional en el mapeo del genoma humano (164).

Polimorfismo molecular de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad. El CMH es el sistema más polimórfico del ser humano. Esta característica es uno de los aspectos más sobresalientes de los genes que integran este sistema. El CMH se encuentra ubicado dentro de una región del brazo corto del cromosoma 6 la cual tiene una amplitud de sólo 2.5 centimorgans (cM). Este complejo se caracteriza por el marcado desequilibrio de enlace genético que existe entre los loci de los genes de clase I y II. Entre los antígenos de clase I, el locus HLA-A consta de 24 alelos; el locus HLA-B (el más polimórfico de todos) representa un total de 50 alelos, y el locus HLA-C sólo comprende 11 alelos. En el grupo de los antígenos

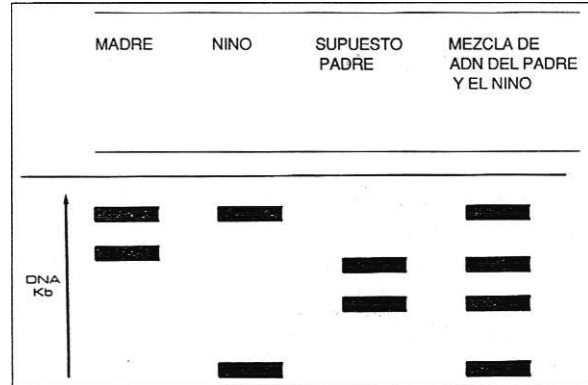


Figura 12A. Prueba de paternidad negativa mediante la aplicación de los patrones de bandas de restricción. Aquí se observa que el patrón de las bandas de los segmentos de restricción del ADN del niño es totalmente diferente a los del supuesto padre.

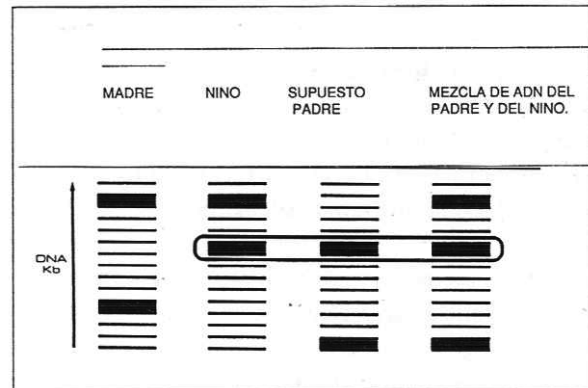


Figura 12B. Prueba de paternidad positiva mediante el uso de la metodología del PLSR. En el ejemplo esquematizado arriba se puede observar claramente que tanto la madre como el supuesto padre biológico comparten el mismo patrón de las bandas análogas a los alelos compartidos. En un caso como éste, los investigadores podrían asegurar con un alto grado de certeza que el alegado padre es en realidad el verdadero padre biológico.

de clase II, el más polimórfico de todos ellos lo constituye el grupo de los alelos del locus DR, dentro del cual se han identificado 20 alelos. El locus DQ posee 10 alelos y el locus DP sólo con seis alelos descritos hasta la fecha. Este polimorfismo también se extiende para algunas proteínas del sistema del complemento cuyos genes que las codifican se encuentran ubicados dentro del sistema del CMH. Los genes de estos antígenos, denominados antígenos de clase III, son Bf, C4a, C4b y C2 (166, 167).

Con el advenimiento de las técnicas de biología molecular hemos podido aprender y comprender en parte la complejidad de los genes que conforman el CMH. Hoy conocemos por lo menos el

número de genes que comprenden cada clase, la reorganización de sus exones y entrones y en la mayoría de las veces su secuencia nucleotídica (168, 169). Existen actualmente 24 genes dentro de la clase I; en cada región existe un limitado número de genes funcionales y otro tanto de genes no funcionales, la mayoría de ellos son los análogos de los genes murinos Qa y Tm. Para las moléculas de clase II existen por lo menos siete genes que codifican la síntesis de la cadena (3 y por lo menos uno más para las cadenas).

La complejidad de la región HLA-D es cada día mayor, aunque está dividida en tres grupos principales de genes (subregiones, DP, DQ, DR), cada una de ellas está compuesta por múltiples genes funcionales de las cadenas α y β (diversos loci). Cuando estos loci no son funcionales se les denominan pseudogenes, tal es el caso del gen DRB2 del loci DR. Además de las regiones anteriormente mencionadas se han identificado otras tres subregiones: DN, DO, DX. A los genes ubicados en estas zonas no se les ha podido demostrar una función biológica determinada y se piensa que ello se ha originado a través de duplicaciones genéticas dentro de la región HLA-D.

Normalmente en cada subregión existe un apareamiento de las cadenas α y β pertenecientes a las mismas, sin embargo, puede resultar la formación de moléculas híbridas con un mayor nivel de complejidad por ejemplo cuando se aparean la cadena del DP con la cadena β del DQ (160).

El análisis del material genómico en la región del CMH, utilizando la metodología del PLFR está enfocada hacia el análisis genético de la familia de estos genes y a la determinación de haplotipos, a partir de la información de los fenotipos.

El uso de las cADN (sondas de amplia y corta longitud) permiten generar los patrones de fragmentos, los cuales conllevan a interpretar la localización y la secuencia nucleotídica de los posibles alelos cuando se correlacionan con la longitud de los fragmentos resultantes. En caso de los antígenos de clase I, el número de bandas que se pueden detectar varía de 15 a 25 de acuerdo con las enzimas y sondas utilizadas (170-175). Este dato es compatible con el número de genes que se

estima para el número de antígenos de clase I (176). El análisis de la distribución de estos patrones de restricción entre los haplotipos muestra que existe un grupo de ellos, de tal manera que algunos fragmentos tienden a aparecer en los mismos haplotipos. El hecho de que estos grupos se encuentren dentro de haplotipos, los cuales previamente se han clasificado con base en especificidades definidas serológicamente, ha permitido estudiar la relación entre el polimorfismo definido a un nivel genómico definido por técnicas serológicas.

El análisis de la variabilidad de los antígenos de clase II se llevó a cabo inicialmente mediante pruebas celulares como el cultivo mixto de linfocitos. Posteriormente, mediante el uso de las técnicas serológicas y bioquímicas, a través de la utilización de antisueros obtenidos de sueros de individuos sensibilizados (aloanticuerpos), con el uso de los anticuerpos monoclonales y las electroforesis de proteínas en dos dimensiones ha sido posible documentar en una forma más extensa el polimorfismo existente en los antígenos de clase II.

Desde el punto de vista molecular existen algunas observaciones claras en la relación funcional y estructural de algunos de los genes de la región HLA-D.

El gen DRB1 en asociación con el gen α codifica las proteínas para los antígenos DR 1 DRW 15, mientras que el gen DRB3 y el gen DR β codifica la síntesis de la familia de las moléculas del DRW52. Por otro lado el DRB4 en asociación con la cadena DR α codifica la síntesis de la familia de las moléculas del DRW52. Por otro lado el DRB4 en asociación con la cadena DR β codifica la síntesis del antígeno DRW53. El análisis de la secuencia de los ácidos nucleicos y de los aminoácidos tanto de los genes como de los productos génicos del DRB ha mostrado que el polimorfismo reside básicamente a nivel de la cadena DRB 1, lo cual permite la producción de múltiples determinantes y por consiguiente las diferentes especificidades funcionales para los antígenos DR.

Las variaciones al azar en una estructura genética básica estarían explicadas por un fenómeno de la mutación genética, bien sea múltiple o única o bien por las conversiones genéticas debidas a las

inserciones de secuencias de ácidos nucleicos de loci vecinos.

La selección natural de los genes polimórficos sobre los genes monomórficos. En esta última teoría están implicados los microorganismos patógenos. Es posible que estos dos tipos de mecanismos participen en la producción del polimorfismo. Una imbricación importante que resulta de las dos hipótesis anteriormente expuestas, lo constituiría el grupo de sujetos en los cuales las moléculas de clase I y II no interactuarían adecuadamente con el receptor de las células T (TcR), produciría una respuesta inmunitaria inadecuada en contra de ciertos microorganismos patógenos. Esta carencia de los conocimientos de los determinantes antigénicos representaría lo que se conoce como "punto ciego" dentro del repertorio de las células T. Apparentemente el polimorfismo del CMH es una compensación de los puntos ciegos de las células T y aquellos individuos que son portadores de los puntos ciegos tienden a desaparecer.

Como se mencionó anteriormente, los alelos de las subregiones DR, DP y DQ se heredan en bloque. Esto debido a la corta distancia que existe entre ellos lo cual hace casi improbable la existencia de recombinación genética (cross over).

Polimorfismo genético y asociación con enfermedades. En los estudios de la asociación del sistema HLA con las enfermedades, el fenómeno de desequilibrio de enlace genético en el complejo mayor de histocompatibilidad, la mayoría de las veces ha dificultado el reconocimiento del posible locus de susceptibilidad para una enfermedad dada; un ejemplo lo constituye la diabetes mellitus insulino dependiente, la cual se ha asociado con el antígeno HLA-DR3 cuando éste forma parte del haplotipo B8 DR3 o del B18 DR3 (177). Debe destacarse que en esta entidad el alelo del "C4 null" se encuentra asociado a ambos haplotipos y debe considerarse como un posible factor genético de contribución en la patogénesis de esta entidad (178).

Como otro ejemplo podemos citar el caso del DR4 que generalmente se asocia con el DQw7. Esto podría causar dificultad en el análisis de la

importancia de los alelos DR y DQ en la susceptibilidad a las enfermedades. Singal y col muestran un incremento del DR4, DQw7 (anteriormente DQw3) en pacientes con artritis reumatoidea, especialmente en el caso de la enfermedad grave, pero otros estudios no demuestran tal incremento en grupos de pacientes similares. Nepom y col plantean la posibilidad de que existan diferencias estructurales entre las cadenas (3 del DR4 que puedan influenciar la interacción entre el CMH y el receptor de células T, produciendo un incremento en la habilidad de tales células para reconocer y responder a antígenos extraños. A través del análisis computarizado en tres dimensiones en modelos de la molécula de clase II identifican una posible hélice alfa en la tercera región hipervariable de la cadena DRB que podría estar involucrada en el reconocimiento por las células T. Esto podría explicar el porqué un grupo de determinantes antigénicos relacionados en diferentes subtipos del DR4 (especificidades celulares) pueden conferir la susceptibilidad a la enfermedad.

Las moléculas de clase II poseen pequeñas regiones de hipervariabilidad alélica, especialmente a nivel de los dominios A₃ y B₃, que varían entre los diferentes individuos, pero estas regiones son idénticas en las diferentes células de un individuo determinado. El sitio donde se une al antígeno se encuentra localizado a nivel de la región hipervariable.

Como se mencionó anteriormente, la mayoría de los estudios en población con los diferentes grupos étnicos han confirmado una fuerte asociación entre el HLA-DR4 y artritis reumatoide en 70-75% de los casos. En otros pequeños grupos raciales se encuentra una asociación entre AR y el haplotipo HLA-DR 1. Tratando de definir el epítipo responsable de la susceptibilidad a la artritis reumatoide, utilizando para ello una serie de técnicas, tales como MLR, serología, RFLP, endonucleasas de restricción y clones de células T, Duquesnoy y col a través de un aloantisuero lograron definir un epítipo en pacientes con AR con HLA-DR4, pero también lo encontraron en pacientes con HLA-DR1. Otro grupo de investigadores logró definir un epítipo, utilizando para ello el anti-

cuerpo monoclonal (abl09db) en 93% de los pacientes con AR.

Con la ayuda de la biología molecular Grege-sen y col han logrado evidenciar que a nivel de la tercera región hipervariable del primer dominio de los subtipos DR4 (Dw4, Dw10, Dw13, Dw 14 y Dw15) y del DR1 comparten una secuencia de aminoácidos similares, especialmente los subtipos Dw4 y Dw 14 y el tipo DR 1. Llama la atención que al compartir estos epítopes se ha observado una mayor susceptibilidad a la artritis reumatoide, pero el subtipo Dw10 no parece asociarse a la artritis reumatoide. La secuencia de aminoácidos del sub-tipo Dw14 y del tipo DR 1 es similar y sólo difieren con el subtipo Dw4 a nivel de un solo aminoácido en la posición 71. En cambio estos dos subtipos (Dw4 y Dw14) y el tipo DR1 difieren en tres ami-noácidos con el subtipo Dw10 (Tabla 13).

Se sugiere que el aminoácido en la posición 57 del DQB1 a nivel de la primera región hipervaria-ble del primer dominio puede ser importante en la susceptibilidad para evolucionar hacia formas se-veras de AR; este aminoácido es el ácido aspártico cargado negativamente en la posición 57.

La genética molecular y la tecnología del trasplante. Después del descubrimiento del siste-ma HLA a mediados de la década del 60 y del éxito del trasplante renal entre gemelos idénticos, comenzaron los programas nacionales e interna-cionales de intercambio, con el fin de encontrar el apareamiento de individuos comprometidos en un trasplante. Para esa época ya se conocía que el apareamiento de los locis A y B no tenían mayor importancia en la supervivencia del trasplante renal del donante cadavérico y que el locus más impor-

tante era un nuevo locus DR, el cual había sido descrito en trabajos que utilizaron como diseño experimental el cultivo mixto de linfocitos. Poste-riormente, en el desarrollo del taller internacional de Histocompatibilidad, celebrado en 1975 en Aarhus, utilizando una nueva técnica descrita por Dupont y otros autores (179-181) mediante el uso de las células homocigotes (Homocigous typing cells: HTC) se definieron unas series de alelos pertenecientes al nuevo locus, denominado HLA-D. También quedó claro que estos alelos se encon-traban en fuerte desequilibrio de enlace genético con los genes del locus HLA-B (181). En 1977, un nuevo taller internacional llevado a cabo en la ciu-dad de Oxford, mostró los resultados provenientes de diferentes laboratorios, los cuales, utilizando anticuerpos provenientes de sueros de múltiparas, encontraron una serie de patrones de reactividad serológica, los cuales se correspondían con los tipos de HLA-D al utilizar el panel de las células HTC (182). Estos nuevos determinantes identificados serológicamente se denominaron HLA-DR para resaltar su relación con los fenotipos de los genes HLA-D, estos anticuerpos que definían las especi-ficidades Dw1, Dw2, Dw3 se denominaron DR1, DR2 y DR3 respectivamente. Después de todo este avance también se esclareció que la región DR tie-ne muy poco desequilibrio de enlace genético con la región DP por un lado y por la región DQ del otro lado.

En las siguientes líneas trataremos de presentar algunos conceptos claros acerca del uso de las sondas ADN en la región HLA-D y sus aportes para un mejor desarrollo de las pruebas de tipifi-cación, después que diferentes grupos en el nove-no taller internacional encontraron (183) este nue-vo soporte en las técnicas de histotipificación, otros grupos de investigadores (184, 185) esclarecieron que las cADN entre individuos no relacionados genéticamente pero con homocidad idéntica entre el HLA-DW/DR mostraban un patrón de restricción idéntico (185). Estos hallazgos indican que existe una secuencia de nucleótidos especifi-cos que se conserva a nivel de estos alelos y que sólo las bandas que son DR1, 2 ó 4, tienen bandas de especificidades que no tienen otros haplotipos

Tabla 14. Seciemcoas a ompácodpsDW uDR1

	66	67	68	69	70	71	72	73	74
Dw4	Asp	Leu	Leu	Gli	Gli	Lys	Lys	Ala	Ala
Dw32	****Kc****	*****	*****	*****	Asp	****Gli****	*****	*****	*****
Dw14	/	-	-	/	-	Arg	-	-	-
Dw15	-	-	-	-	-	Arg	-	-	-
DR1	-	-	-	-	-	Arg	-	-	-

(186, 187). Además se sabe hoy que el DR3, 5 y DRW6 se pueden agrupar de acuerdo con sus patrones de restricción. Es necesario anotar que todos estos resultados se han obtenido utilizando la cADN del DR (3 y en la mayoría de los experimentos, el material genómico fue digerido utilizando las enzimas de restricción BamHI y PvuII (186-188). De manera análoga también se ha encontrado polimorfismo de los alelos del DQ en grupos de individuos genéticamente diferentes pero con fenotipos idénticos, los cuales a menudo muestran un mismo patrón de restricción al usar las sondas de la cadena 3 del DQ (188-189). Poco se conoce acerca de la importancia de la diferencia de los patrones de restricción del DQ en aquellos individuos idénticos al locus DR que han sido sometidos a trasplantes renales, igual se puede decir en relación con el locus DR.

Se ha especulado que la incompatibilidad DP debe ser importante en el trasplante de médula ósea; este concepto ha emergido de la alta proporción de pacientes que desarrollan la enfermedad injerto vs. huésped. A pesar de que estos individuos se seleccionan con un alto apareamiento en los loci HLA-A, B, C y DR entre individuos genéticamente diferentes, los cuales tienen una baja o nula respuesta en el cultivo mixto de linfocitos, pero con una fuerte estimulación de PLT (190).

Existen varios puntos que deben clarificarse antes de presentar conclusiones acerca del papel de la biología molecular, en el estudio de los antígenos de clase II y su aplicación en la clínica del trasplante: en primera instancia debe tenerse en cuenta la distribución tisular de los antígenos DR, DP y DQ. Estos antígenos no se expresan en iguales cantidades ni tampoco de la misma forma en los diferentes tipos de células de los mismos y diferentes individuos (191). Por otro lado, la distribución del DQ varía en las diferentes subpoblaciones de monocitos (192). Otros autores también han encontrado diferencias en la expresión de los distintos antígenos de clase II sobre la superficie de los linfocitos B a través de las diferentes fases de su diferenciación (192). Casi nada se conoce acerca de la expresión de los antígenos DP sobre la superficie de las células que pudieran ser de im-

portancia en el trasplante de riñón. Por otro lado, los niveles de la variabilidad de los genes de la cadena α y β del DQ demostrado por los estudios de la técnica del ADN recombinante han excedido las especificidades que se pueden reconocer a través de las técnicas celulares y serológicas que se conocen hasta el momento.

Los estudios que han utilizado técnicas bioquímicas han confirmado lo anterior (193). Para las moléculas DP la situación no es diferente, muy poco se conoce en relación con la expresión a los determinantes aloantigénicos en las moléculas DP ya que éstas no se pueden determinar con antisueños; esta dificultad puede ser debido a la densidad con que se expresan estos antígenos DP en los linfocitos de sangre periférica.

Posiblemente la continuidad de los estudios en el campo del análisis molecular de los genes del MHC permitan esclarecer la verdadera importancia de estas nuevas especificidades y su aplicación en la escogencia del donante perfecto.

La técnica de la reacción en cadena de la polimerasa del ADN. Este nuevo método ha revolucionado la tecnología del ADN recombinante, permitiendo que los estudios se puedan hacer en una forma más rápida y más sensible (194). Este método permite amplificar material genómico de tal manera que intenta reproducir la replicación natural del ADN de una manera similar a como se da *in vivo*. En él, la secuencia del ADN en pocas horas se puede amplificar un millón de veces. La metodología se basa en una técnica que se divide en tres etapas, todas conducidas en una forma repetitiva bajo diferentes condiciones controladas de temperatura. Inicialmente, la muestra de ADN en estudio se somete a altas temperaturas con la finalidad de desnaturalizarla y así poder mantener las dos hélices disociadas. A continuación se utilizan dos oligonucleótidos como moldes, se producirá la síntesis de dos nuevas moléculas, las cuales contienen cada una de ellas una banda del ADN nativo; la secuencia del nucleótido es determinada por la secuencia del ADN. En el tercer paso de la técnica denominada proceso de extensión, la polimerasa del ADN reproducirá grandes cantidades

del segmento del genoma inicialmente reproducido. Actualmente la polimerasa que se utiliza es derivada del *Thermus acuaticus* (188), la cual es altamente estable a temperaturas altas. En la técnica, cada ciclo comprende tres pasos: desnaturalización; apareamiento y extensión. La Figura 13 intenta explicar en forma esquemática el procedimiento; en ella se observa claramente como el segmento genómico que se quiere amplificar después de tres ciclos produce cantidades acumuladas relevantes (189, 190).

La reacción en cadena de la polimerasa (RCP) tiene varias aplicaciones en medicina clínica. Una de ellas es su aplicabilidad en las enfermedades genéticas (191-192), tales como anemia de células falciformes, la fenil cetonuria, etc. Otra ventaja de la técnica es que ella no utiliza ningún material radiactivo, haciéndola más accesible a los países del tercer mundo. Si se logra obtener suficiente material genético después de amplificarlo éste se pudiera colorear fácilmente después de colorear el gel con bromuro de ethidium. Esta técnica es tan sensible, que se pueden utilizar simples hebras de cabello (189), o la obtención del ADN por medio de un frotis de la mucosa de los carrillos. En el campo de diagnóstico de las enfermedades infecciosas la técnica ya se ha aplicado a la detección del virus del SIDA (191) y al papilovirus humano (192). Es de esperarse que por su rapidez y su bajo costo y poco riesgo laboral, este método se pueda aplicar a una gran variedad de ensayos diagnósticos en la clínica.

Es de lógica considerar que la inmunogenética y la genética clínica han comenzado a correr por un nuevo sendero, el de la biología molecular. Uno de los sistemas que más se ha beneficiado es el sistema HLA, en el cual actualmente ha sido posible detectar, alrededor de unos 200 polimorfismos. Con el descubrimiento de nuevos marcadores de polimorfismo tal vez se dé un gran avance en el campo de la asociación del CMH con otras enfermedades. Es posible también que una lista de nuevas entidades clínicas, asociadas con el sistema HLA, se agregue a las ya conocidas, bien sea con la susceptibilidad o resistencia a ellas. Este tipo de tecnología permitirá un nuevo avance en la pre-

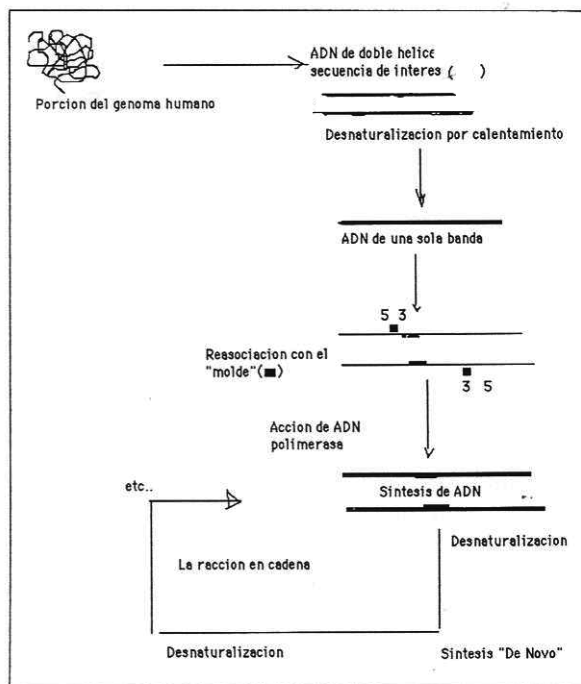


Figura 13. La metodología de la reacción en cadena de la polimerasa del ADN.

dicción y prevención de las enfermedades, dando así la oportunidad de una mejor aplicabilidad a los conceptos de la medicina preventiva. Sin embargo, la máxima aplicación de esta tecnología, durante la segunda mitad de este decenio, lo constituye la oportunidad de entender los mecanismos fisiopatológicos de diversas enfermedades al identificar y caracterizar, en forma exacta, el gen o los genes responsables de la misma.

GLOSARIO

- Alelo.** La forma alternante de un gen que se expresa en el mismo locus.
- Alogénico.** Individuos que pertenecen a una misma especie pero son genéticamente distintos.
- Centimorgan.** Unidad de medida que define la distancia entre dos genes. Se puede decir que un centimorgan equivale a 1% de recombinación.
- Codominante.** El estado en el cual cada gen expresa su efecto en el heterocigoto.
- Centrómero.** Sitio en donde el cromosoma se une

al huso durante la división celular.

Clon. Familia de células provenientes de una misma célula ancestral. También se refiere este término a un grupo de moléculas idénticas genéticamente.

Clonaje. Metodología del ADN recombinante por medio de la cual se hace posible clonar genes.

Deleción. Pérdida de un segmento genómico en un cromosoma dado.

Desequilibrio de enlace genético. Estado en el cual dos o más genes están presentes en el mismo haplotipo con una frecuencia mayor de la esperada.

Dominios. Secuencia polipeptídica de la molécula de una inmunoglobulina, la cual se encuentra físicoquímicamente definida por puentes de disulfuros, estableciéndose asas que en la mayoría de las veces cumplen funciones biológicas.

Endonucleasas de restricción. Enzima capaz de degradar el ADN extraño a través del reconocimiento específico de secuencias nucleotídicas en el interior de la molécula. Esta enzima respeta el ADN del hospedero a causa de la mediación del mismo.

Entrecruzamiento. Intercambio de segmentos entre cromosomas homólogos.

Fenotipos. Los rasgos característicos externos producidos por los genes.

Gen. Factor unitario de la herencia.

Genotipo. Constitución genética de un individuo u organismo.

Genoma. El total del material genético de un individuo u organismo.

Genes de respuesta inmunitaria. Conjuntos de genes pertenecientes al CMH, los cuales controlan la respuesta inmunitaria a antígenos específicos (genes Ir).

Haplotipo. Es el conjunto de genes localizados en el CMH estrechamente ligados entre sí.

Heterocigoto. Tenencia de diferentes alelos en un locus determinado a nivel de cromosomas homólogos.

Homozigoto. Tenencia de un mismo alelo en cromosomas homólogos.

Hibridización. Es el proceso mediante el cual dos

bandas separadas de ADN interactúan para formar una molécula de doble hélice. Esta interacción se basa en la formación de puentes de hidrógeno entre las bases complementarias de cada una de las bandas.

Ligasa. Enzima que cataliza la formación de los puentes de fosfodiéster en el sitio de escisión de una molécula de ADN nativo.

Locus. Sitio que ocupa un gen a lo largo de un cromosoma determinado.

Mutación. Un cambio en el material genético de un individuo, el cual se transmite en forma hereditaria.

Nucleótido. Es la unidad básica de los ácidos nucleicos. Bioquímicamente corresponde a un nucleósido que es fosforilado en uno de los grupos hidroxilos de las pentosas.

Plásmido. Se trata de una estructura de ADN circular extracromosómica, la cual se replica autónomamente dentro de la célula bacteriana y no es esencial para el mantenimiento de la célula.

Polimorfismo. Existencia de dos o más fenotipos distintos en una población determinada.

Polimerasa. Enzima catalizadora del ensamblaje de los ribonucleótidos o de los deoxiribonucleótidos al interior del ADN o del ARN respectivamente.

Recombinación. Es el fenómeno mediante el cual un entrecruzamiento permite que el gameto contenga los genes tanto de origen materno como paterno.

Riesgo relativo. Es el término que asocia a un marcador genético con el hecho biológico de presentar una enfermedad dada.

Southern Blot. Es la metodología que permite hacer la transferencia de los fragmentos de ADN, obtenidos mediante electroforesis del gel a ciertos tipos diferentes de soportes. Los fragmentos que se transfieren posteriormente se detectan mediante la utilización de la hibridización con sondas de ADN o ARN.

Sonda. Moléculas de ADN o de ARN las cuales se encuentran "marcadas" (acopladas) radiactivas o inmunológicamente y que se usan en los experimentos de hibridización para detectar la presencia de secuencias complementarias.

Transcriptasa reversa. Una enzima de ciertos virus de ARN la cual cataliza la polimerización del ADN a partir de un template de ARN. También se le conoce como ADN polimerasa, ARN dependiente.

ABSTRACT

Recent research on the association between disease and HLA system is discussed in this review paper. In addition, the conclusions of the "Nomenclature Committee" of the 10th International Histocompatibility meeting, as well as the significance of Recombinant DNA technology are carefully analyzed. Practical clinical uses of all this complex knowledge are minutely illustrated.

REFERENCIAS

- Lilly F. The inheritance to the gross leukemia virus in mice. *Genetics* 1966; **53**: 529-535.
- Amiel JL. Study of the leucocyte phenotypes in the Hodg Kins's disease. *Histocompatibility testing 1967*. Copenhagen: Munksgaard; 1970: 79-81.
- Brewerton D, Caffrey M, Hart F. Ankylosing spondylitis and HLA-B27. *Lancet* 1973; **2**: 904-906.
- Bodmer JG, Rocques P, et al. Joint report of the fifth international histocompatibility workshop. In: Dausset I, Colombani J, eds. *Histocompatibility Testing 1972*. Copenhagen: Munksgaard; 1973: 619.
- Jerne NK. The somatic generation of immune recognition. *Eur J Immunol* 1971; **1**: 1-8.
- Zinkernagel RM, Doherty PC. Restriction of in vitro T cell mediated cytotoxicity in lymphocyte chorionomeningitis within a syngenic or semiallogenic system. *Nature* 1974; **248**: 701-702.
- Geczy AF, Alexander K, Bashir HV, Edmonds JP, Upfold L, Sullivan J. HLA-B27, *Klebsiella* and ankylosing spondylitis: Biological and chemical studies. In: Moller G, ed. *Immunol Rev* Copenhagen: Munksgaard, 1981; **70**: 23-50.
- Ogasawara M, Kono DM, Yu DTY. Mimicry of human histocompatibility HLA-B27 antigens by *klebsiella pneumoniae*. *Infect Immunol* 1986; **51**: 901-908.
- Svejgaard A, Platz P, Ryder LP. HLA and disease 1982, a survey. In: Moller G, ed. *Immunol Rev*. Copenhagen: Munksgaard, 1983; **70**: 193-218.
- Weiss EH, Kvon W, Dorner C, Lang M, Riethmuller G. Organization, sequence and expression of the HLA-B27 gene: A molecular approach to analyze HLA and disease associations. *Immunobiology* 1985; **170**: 367-380.
- Terasaki PL. Histocompatibility testing 1980. Los Angeles: UCLA Tissue typing laboratory; 1980.
- Thomson G, Bodmer W. HLA A1 genotype associations with disease. *Tissue Antigens* 1979; **13**: 91-103.
- Alper CA. Extended MHC haplotypes and disease markers. *ISI Atlas of Science* 1988: 79-83.
- Babbitt BP, Allen PM, Matsueda G, Haber E, Unanue ER. Binding of immunogenic peptides to I A histocompatibility molecules. *Nature* 1985; **317**: 359-362.
- Sasazuki T, Nishimura Y, Muto M, Ohta N. HLA linked genes controlling immune response and disease susceptibility. In: Moller G ed. *Immunol Rev Copenhagen*: Munksgaard; 1981; **70**: 51-75.
- Miller LH, Mason SJ, Dvorak JA, McGinnis MH, Rotchman IK. Erythrocyte receptors for *Plasmodium knowlesi* malaria. Duffy group determinants. *Science* 1975; **189**: 561-564.
- Inman RD. The interplay of microbes and MHC in the pathogenesis of the Reiter's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1986; **4**: 75-82.
- Inman RD, Chiu B, Johnston MEA, Falk J. Molecular mimicry in Reiter's syndrome: cytotoxicity and ELISA studies of HLA- microbial relationships. *Immunology* 1986; **58**: 501-506.
- Inman RD, Johnston MEA, Hodge M, Flak J, Helewa A. Post dysenteric reactive arthritis. A clinical and immunogenetic study following an outbreak of salmonellosis. *Arthritis Reum* 1988; **31**: 1377-1383.
- Alper CA, Awdeh ZL, Raum D, Yunis EJ. Extended major histocompatibility complex haplotypes in man: Role of alleles analogous to murine. *Clin Immunol Immunopath* 1982; **24**: 276-282.
- Alper CA, Raum D, Karp S, Awdeh ZL, Yunis EJ. Serum complement "supergenes" of the major histocompatibility complex in man (Complotypes). *Vox Sang* 1983; **45**: 62-67.
- De Wolf WC, Lange PH, Einarsen ME, Yunis EJ. HLA and testicular cancer. *Nature* 1979; **277**: 216-219.
- Dupont B, Pollack MS, Levine LS, O'Neil G J, Hawkins BR, New MI. Joint report congenital adrenal hyperplasia. In: Terasaki PI ed. Histocompatibility testing 1980. Los Angeles: UCLA Tissue typing laboratory; 1980.
- Cartwright GE, Edwards CQ, Kravit K, Skolnick M, Amos DB, Johnson A, Buskaajar L. Hereditary hemochromatosis. Phenotypic expression of the disease. *N Engl J Med* 1979; **301**: 175-182.
- Amos DB, Johnson AH, Cartwright G, Edwards C, Scholnick M. HLA and b cell antigens in hemochromatosis. *Tissue Antigens* 1977; **10**: 206-211.
- Miller JFPA. Histocompatibility genes and diabetes. *Clin Immunol News* 1988; **9**: 149-151.
- Campbell IL, Wong GHW, Schrader JW, Harrison LC. Interferon gamma enhances the expression of the major histocompatibility class I antigens on mouse pancreatic beta cells. *Diabetes* 1985; **34**: 1205-1209.
- Campbell IL, Harrison RG, Ashcroft RG, Jack I. Retrovirus infection enhances expression of class I MHC protein on human b cell nad rat RINm5F cell. *Diabetes* 1988; **37**: 362-365.
- Ryder LP, Svejgaard A. Genetic of HLA disease association. *Ann Rev Genet* 1981; **15**: 169-187.
- Svejgaard A, Platz P, Ryder LP. Insulin dependent diabetes mellitus. In: Terasaki PI ed. Histocompatibility Testing 1980. Copenhagen: Munksgaard; 1980: 638-656.
- Raum D, Alper CA, Stein R, Gabbay KH. Genetic marker for insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1979; **i**: 1208-1210.
- Raum D, Awdeh ZL, Alper CA, BF. Types and the mode of inheritance of insulin dependent diabetes mellitus (IDDM). *Immunogenetics* 1981; **12**: 59-74.
- Raum D, Awdeh ZL, Yunis EJ, Alper CA, Gabbay KH. Extended major histocompatibility complex haplotypes in type I diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1984; **74**: 449-454.
- Alper CA, Fleischnick E, Awdeh ZL, Katz AJ, Yunis EJ. Extended major histocompatibility complex haplotypes in patients with gluten-sensitive enteropathy. *J Clin Invest* 1987; **79**: 251-256.
- Van der Berg-Loonen EM, Lucas KD. LD 7A typing in 46 patients with multiple sclerosis. In: Terasaki PI ed. Histocompatibility testing 1975. Copenhagen: Munksgaard; 1975: 773-777.
- Simon M, Pawlitsky Y, Bourel M, Fauchet R, Genetet B. Hemochromatose "idiopathique": maladie associée à l'antigène tissulaire HL-A3? *Nouv Presse Med* 1975; **4**: 1432.
- Dupont B, Oberfeld SE, Smithwick EM, Lee TD, Levine LS. Close genetic linkage between HLA and congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency). *Lancet* 1977; **ii**: 1309-1312.
- Carroll MC, Campbell RD, Porter RP. Mapping of steroid 21-hydroxylase genes adjacent to complement component C4 genes in HLA, the major histocompatibility complex in man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;

- 82:521-525.
37. **White PC, Grpssberg D, Oufer BJ, Chaplin DD, New MI, Dupont B, Strominger JL.** Two genes encoding steroid 21-hydroxylase are located near the genes encoding the fourth component of complement in man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:1089-1093.
 38. **White PC, New MI, Dupont B.** HLA- linked congenital adrenal hyperplasia results from a defective gene encoding a cytochrome p-450 specific for steroid 21-hydroxylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81:7505-7509.
 39. **Carrol MC, Palsdottir A, Belt KT, Porter RR.** Deletion of complement C4 and steroid 21-hydroxylase gene in the HLA class III region. *EMBO* 1985; 4:2547-2552.
 40. **Fleischnick E, Awdeh ZL, Raum D, et al.** Extended MHC haplotypes in 21-hydroxylase-deficiency congenital adrenal hyperplasia: shared genotypes in unrelated patients. *Lancet* 1983; i:152-156.
 41. **Laron Z, Pollack MS, Zamir R, et al.** Late onset 21-hydroxylase deficiency and HLA in the Ashkenazi population: a new allele at the 21-hydroxylase*loci. *Human Immunol* 1980; 1:55-56.
 42. **Layrisse Z, White C, Gunczler P, et al.** Sharing of MHC haplotypes among apparently unrelated patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Immuno genetics* 1987; 25:99-103.
 43. **McDevitt HO, Bodmer WF.** HLA immune response genes and disease. *Lancet* 1974; i:1269-1275.
 44. **Alper CA, Awdeh ZL, Rapoport J, Raum DD, Yunis EJ.** Clonotypes in bone marrow transplantation. *Transpl Proc* 1985; 17:440-441.
 45. **Whitehead AS, Woods DE, Fleischnick E, et al.** DNA polymorphism of the C4 genes: a new marker for analysis of the major histocompatibility complex. *N Engl J Med* 1984; 310:88-91.
 46. **Fu SM, Stern R, Kunkel HG, et al.** Mixed lymphocyte culture determinants and C2 deficiency: LD-7a associated with C2 deficiency in four families. *J Exp Med* 1975; 142:495-506.
 47. **Awdeh ZL, Raum DD, Glass D, et al.** Complement human histocompatibility antigen haplotypes in C2 deficiency. *J Clin Invest* 1981; 67:581-583.
 48. **Fu SM, Kunkel HG, Brusman HP, Allen FH Jr, Fotino M.** Evidence for linkage between HLA histocompatibility genes and those involved in the synthesis of the second component of complement. *J Exp Med* 1974; 140:1108-1110.
 49. **Craven DE, Kunches LM, Dienstag JL, et al.** Non-responsiveness to hepatitis B vaccine in health care workers; results of re-vaccination and genetic typing. *Ann Int Med* 1986; 105:356.
 50. **Vento S.** Antigen specific cell function in autoimmune chronic active hepatitis. *Lancet* 1984; 1200-1204.
 51. **Walker ME, Szmunes W, Stevens CE, Rubinstein P.** Genetics of anti-HBs responsiveness: I HLA-DR27 and non-responsiveness to hepatitis vaccination. *Transfusion* 1981; 21:601.
 52. **Usonis V, Kuhl P, Rede HD, Doerr HW.** Humoral immune response after hepatitis B vaccination: Kinetics of anti-HBs antibodies and demonstration of HLA antigens. *Zentra Bacteriol Microbiol Hyg* 1986; 262:377-384.
 53. **Penichi G, Cappellacci Mole A, Morelli M, Lulli P, Pescini A.** HLA and hyporesponsibility to anti-HBV vaccination (genetic study of non-responder subjects to anti-hepatitis B viral vaccine). *Boll Inst Seroter Milan* 1986; 65:459-463.
 54. **Gorzynski TJ, Davis CS.** Immune response gene-associated antigens Ia/DR structure and function in immunologically related diseases. *Mayo Clin Proc* 1983; 58:457-466.
 55. **Cayzer T.** Proceedings of the International symposium on viral Hepatitis and liver disease. *Barbican Center* 1987; 26-28.
 56. **Milich D, Leroux-Roels GG, Chisari FV.** Genetic regulation of the response after hepatitis B vaccination: Kinetics of anti-HBs antibodies and demonstration of HLA. *Zentra Bacteriol Microbiol Hyg* 1986; 262:377-384.
 57. **Cars RM, Anderson RR.** The disappearance rate of skin-sensitivity antibody. *J Allergy* 1986; 42:29.
 58. **Bennich H, Johansson SGO.** Structure and function of human Immunoglobulin E. *Adv Immunol* 1971; 13:1.
 59. **Katz DH, Marcelleti JF.** Regulation of the IgE antibody system in humans and experimental animals. Yamura Tada eds. *Progress in Immunology. V Intern Congress of Immunology* 1983:465-482.
 60. **Smith JM.** Epidemiology and natural history of asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis. In: Middleton E, Reed C, Ellis E, eds, *Allergy Principals and Practice*. St Louis: Mosby 1983:771.
 61. **Blumenthal M, Mendell N, Yunis EJ.** Immunogenetics of atopic diseases. *J All Clin Immunol* 1980; 65:403-405.
 62. **Vaughn W, Black JH.** *Heredity in practice of Allergy*. 3th Ed St. Louis: Mosby 1954:74.
 63. **Deweck A, Blumenthal M, Yunis EJ, Jeannet M.** HLA and allergy. In: Dausset J, Svegaard A eds. *HLA and disease*. Baltimore: Williams and Wilkins Company; 1977.
 64. **Blumenthal M, Nambodiri K, Mendell N, Gleich G, Elston RC, Yunis EJ.** Genetic transmission of serum IgE levels. *J Med Genet* 1981; 10:219-228.
 65. **Hopp R, Coleman R, Bewerta A, Townley R.** Methylcholine inhalation challenge as a potential genetic marker. American Academy of Pediatrics section of Allergy and Immunology 1984.
 66. **Levine E, Stember R, Fontino M.** Ragweed, Hay fever, genetic control and linkage to HLA-A haplotypes. *Science* 1972; 178:1201.
 67. **Blumenthal M, Amos D, Noreen H, Mendell N, Yunis EJ.** Genetic mapping of I/r loci in man. Linkage to second loci of HLA. *Science* 1974; 184:1301.
 68. **Mendell NR, Blumenthal M, Amos DB, Yunis EJ, Elston RC.** Ragweed sensitivity. Segregation analysis and linkage to HLA-B. *Cytogenetics* 1978; 22:330-334.
 69. **Blumenthal MN, Yunis EJ, Mendell NR, Amos DB.** HLA and Ragweed allergy. *Monographs in Allergy*; 11:83-88.
 70. **Marsh D, Hsu SH, Roebber M.** HLA-Dw2, A genetic marker for human immune responses to short ragweed allergen Ra5, K response resulting primarily from natural antigenic exposure. *J Exp Med* 1982; 155:1439-1451.
 71. **Marsh D, Meyers D, Freidhoff L.** HLA-Dw2 A genetic marker for human response to short ragweed allergen Ra5, II: response after ragweed immunotherapy. *J Exp Med* 1982; 155:1452-1463.
 72. **Scheleimer RP, McGlashan DW, Peters SP, Naderia R, Proud D, Adkinson NF, Lichenstentein LM.** Inflammatory mediators and mechanism of release from purified human basophils and mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 1984; 4:473-479.
 73. **Jones K, Moon G.** *Health disease and Society*. London: Routledge and Kegan Paul Ltd; 1987.
 74. **Angell M.** Disease as a reflection of the psyche. *N Engl J Med* 1985; 312:1570-1572.
 75. **Sagan LA.** True causes of sickness and well-being. The health of nations. *New York: Basic Books*; 1987.
 76. **Jenner E.** An inquiry into the causes and effects of the variolae vaccinal a disease discovered in some of the western countries of England, Particularity Gloucestershire and known by the name of the cow-Pox, London. Sampson Low; 1978.
 77. **Fujinami RS, Oldstone MBA, Wroblewska Z, Frankel ME, Koprowsky H.** Molecular mimicry in virus infection: Cross-reaction of measles virus phosphoprotein or of herpes simplex virus protein with human intermediate filaments. *Proc natl Acad Sci USA* 1983; 80:2346-2350.
 78. **Ahmed R, Oldstone MBA.** Mechanism and biological implications of virus-induced polyclonal B-cell activation. In: AL Notkins and MBA Oldstone eds. *Concepts in viral pathogenesis*. New York: Springer Verlag; 231-238.
 79. **Fujinami RS, Oldstone MBA.** Aminoacid homology between the encephalitogenic site of myelin basic protein and virus: Mechanism for autoimmunity. *Science* 1985; 230:1043-1045.
 80. **Lane DP, Hoeffler WK.** SV40 large T shares an antigenic determinant with a cellular protein of molecular weight 68000. *Nature* 1980; 288:167-

- 170.
81. **Dales S, Fujinami RS, Oldstone MBA.** Infection with vaccinia favors the selection of hybridomas synthesizing autoantibodies against intermediate filaments, one of the cross-reacting with the virus hemagglutinin. *J Immunol* 1983; **131**:1546-1553.
 82. **Buchmeir MJ, Lewicki HA, Tomori O, Oldstone MBA.** Monoclonal antibodies to lymphocytic choriomeningitis and pichinde viruses: Generation, characterization, and cross-reactivity with other arenaviruses. *Virology* 1981; **113**:73-85.
 83. **Shaw S Y, Laursen RA, Lees MB.** Analogous amino acid sequences in myelin proteolipid and viral proteins. *FEBS letters* 1986; **207**:266-270.
 84. **Eastmond CJ, Woodrow JC.** Discordance for ankylosing spondylitis in monozygotic twins. *Ann Rheum Dis* 1977; **36**:360-365.
 85. **Keat A.** Is spondylitis caused by *klebsiella*? *Immunol Today*, **7**:144-145.
 86. **Rosebaum JT.** Why HLA-B27: An analysis based on two animal models. *Ann Intern Med* 1981; **94**:261-263.
 88. **Schlosstein L, Teresaki PI, Bluestone R, Pearson CM.** High association of an HLA antigen w27 with ankylosing spondylitis. *N Engl J Med* 1973; **288**:704-709.
 89. **Schwimmbeck PL, Yu DTY, Oldstone MBA.** Auto antibodies to HLA-B27 in the sera of HLA-B27 patients with ankylosing spondylitis and Reiter's syndrome. *J Exp Med* 1987; **166**:173-181.
 90. **Sullivan J, Upfold L, Geczy AF, Baschir HV, Edmonds J.** Immunological characterization of klebsiella antigens which specifically modify an HLA-B27 associated cell-surface component. *Hum Immunol* 1982; **5**:295-307.
 91. **Sullivan JS, Prendergast JK, Geczy AF, Edmonds JP et al.** Cross-reacting bacterial antigens in ankylosing spondylitis. *Am J Med* 1988; **85** (Suppl 6A):54-55.
 92. **Srinivasappa J, Saegusa J, Prabhakar BS et al.** Molecular mimicry: Frequency of reactivity of monoclonal antiviral antibodies with normal tissues. *J Virology* 1986; **57**:397-401.
 93. **Senecal JL, Rothfield HF, Oliver JM.** Immunoglobulin M autoantibody to vimentin intermediate filaments. *J Clin Invest* 1982; **69**:716-721.
 94. **Kurki P, Helve T, Virtanen I.** Antibodies to cytoplasmic intermediate filaments in rheumatic diseases. *J Rheumatol* 1983; **10**:558-562.
 95. **Van de Risn, Zabriskie JB, McCarthy.** Group A streptococcal antigens cross-reactive with myocardium: Purification of heart reactive antibody and isolation and characterization of the streptococcal antigen. *J Exp Med* 1977; **146**:579-599.
 96. **Khoury EL, Ritacco V, Cossio PM, Laguens RP, Szarfman A, Diez C, Avana RM.** Circulating antibodies to peripheral nerve in american trypanosomiasis. Chagas disease. *Clin Exp Immunol* 1979; **36**:8-15.
 97. **Cunningham MW, Krisher K, Graves DC.** Murine monoclonal antibodies reactive with human heart and group A streptococcal membrane antigens. *Infect Immunol* 1974; **46**:34-41.
 98. **Wood JN, Hudson L, Jessell TM, Yamamoto M.** A monoclonal antibody defining antigenic determinants on sub-populations of mammalian neurones and trypanosoma cruzi parasites. *Nature* 1982; **296**:34-38.
 99. **Roit IM, Doniach D, Campbell PN, Vaughan-Hudson R.** Autoantibodies in Hashimoto's disease (Lymphadenoid goitre). *Lancet* 1956; **2**:820-823.
 100. **Doniach D, Roit IM.** Human organ specific autoimmunity: Personal memories. *Autoimmunity* 1988; **1**:11-13.
 101. **Botazo GF, Todd I, Mirakian R, Belfiore A, Pujol-Borrell R.** Organ-specific autoimmunity: A 1986 Overview. *Immunological reviews* 1986; **94**:137-168.
 102. **Botazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D.** Islet cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 1974; **2**:1279-1283.
 103. **Botazzo GF, Pouplard A, Florin-Christensen A, Doniach D.** Autoantibodies to prolactin-secreting cells of human pituitary. *Lancet* 1975; **2**:97-101.
 104. **Eisenbarth GS.** Immunoendocrinopathy syndromes. In: Wilson JD, Foster DW eds. *Williams Textbook of endocrinology*. 7th Ed. Philadelphia: WB Saunders; 1985:1290-1300.
 105. **Farid NR, Bear JC.** The human major histocompatibility complex and endocrine disease. *Endocrine Reviews* 1981; **2**:50-86.
 106. **Loveridge N, Bitensky L, Chayen J, et al.** Inhibition of parietal cell function by human gamma-globulin containing gastric parietal cell antibodies. *Clin Exp Immunol* 1980; **41**:264-270.
 107. **Adams DD.** The clinical status of patients whose serum given the abnormal response when assayed for thyrotropin. *Pore univ otago Med Sch* 1956; **34**:29-35.
 108. **Doniach D.** Clinical observations and hypothesis related to TSH receptors. In: Muhlen A Schleusener eds. *Biochemical basis of thyroid stimulation and thyroid hormone action*. Stuttgart: Georg Thieme; 34-36.
 109. **Drexhage HA, Botazzo GF, Doniach D, Bitensky L, Chayen J.** Evidence for thyroid growth stimulating immunoglobulins in some goitrous thyroid diseases. *Lancet* 1980; **2**:287-292.
 110. **Drexhage HA, Botazzo GF, Bitensky L, Chayen J, Doniach D.** Thyroid growth-blocking antibodies in primary myxedema. *Nature* 1981; **289**:594-596.
 111. **Kahn CR, Kasuga M, King GL, Grunfeld C.** Autoantibodies to insulin receptors in man: Immunological determinants and mechanism of action. In: Evered D, ed. *Receptors, autoantibodies and disease*. CIBA symposium 90, London, Pitman; 91-105.
 112. **Konishi J, Lida Y, Kasagi K, Eudo K, Misaki T, Torizuka K.** Thyrotropin receptor blocking antibodies. In: Labrig F, Proul eds *Endocrinology*. Amsterdam: Excerpta Medica; 559-562.
 113. **Compston A, Vincent A.** Multiple sclerosis and Myasthenia Gravis. *Clin Immunol Allergy* 1985; **5**:569-584.
 114. **Dawkins RL, Garlepp MJ.** Autoimmune diseases of muscle: Myasthenia Gravis and Myositis. In: Rose NR, Mackay IR eds. *The autoimmune disease*; 591-615.
 115. **Pujol-Borrel R, Hanafusa T, Chiovato L, Botazzo GF.** Lecitin-Induced expression of DR antigen on human cultured follicular thyroid cells. *Nature* 1983:304.
 116. **Hanafusa T, Pujol-Borrel R, Chiovato L, Russell RCG, Doniach D, Botazzo GF.** Aberrant expression of HLA-DR antigen on thyrocytes of Graves' disease: Relevance to thyroid autoimmunity. *Lancet* 1983; **2**:1111-1115.
 117. **Botazzo GF, Pujol-Borrel R, Hanafusa T, Feldman M.** Role of aberrant HLA-DR expression and antigen presentation in induction of endocrine autoimmunity. *Lancet* 1983; **1115**-1119.
 118. **Tood I, Pujol-Borrel R, Hammond LJ, Botazzo GF.** Interferon gamma induces HLA-DR expression by thyroid epithelium. *Clin Exp Immunol* 1985; **61**:265-270.
 119. **Londei M, Lamb JR, Botazzo GF, Feldman M.** Epithelial cell expressing aberrant MHC class I determinants can present antigen to cloned human T cells. *Nature* 1984; **312**:639-641.
 120. **Londei M, Botazzo GF, Meldann M.** Human T cell clones from autoimmune thyroid glands: specific recognition of autologous thyroid cells. *Science* 1985; **228**:85-89.
 121. **Grubeck-Loebenstein B, Londei M, Greenall C, Pirich K, Kassal H, Waldhausl W, Feldman M.** Pathogenic relevance of HLA class II expressing thyroid follicular cells in nontoxic goiter and in Graves' disease. *J Clin Invest* 1988; **81**:1608-1614.
 122. **Granados J, Alarcón-Segovia D, Oria CV, et al.** Anticardiolipin autoantibodies (ACLA) in families of patients with systemic lupus erythematosus (SLE), relationship to complement serotypes (Abstr) *Arthritis Rheum* 1987; **Supp 30**:522.
 123. **Hargraves MM, Richmond H, Morton R.** Presentation of two bone marrow elements: the "tart" and the "LE" cell. *Mayo Clin Proc* 1948; **23**:25-28.
 124. **Haserick JR, Bortz DW.** Normal bone marrow inclusion phenomena induced by lupus erythematosus plasma. *J Invest Dermatol* 1949; **13**:47-49.
 125. **Coons AH, Kaplan MH.** Localization of antigen in human cells. I. Improvements in a method for detection of antigen by means of a fluores-

- cent antibody. *J Exp Med* 1950; 91:1-13.
126. **Frión GJ.** Clinical application of lupus serum nucleoprotein reaction using fluorescent antibody technique. *J Clin Invest* 1957; 36:890-896.
 127. **Bardawill WA, Toy BL, Galins BA, et al.** Disseminated lupus erythematosus, scleroderma, and dermatomyositis as manifestations of sensitization to DNA protein, I, an immunohistochemical approach. *Am J Pathol* 1958;34:607-629.
 128. **Beck JS.** Variation in the morphological patterns of "autoimmune" nuclear fluorescence. *Lancet* 1961; 1:1203-1205.
 129. **Deicher HRG, Holman HR, Kunkel HG.** The precipitin reaction between DNA and serum factor in systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* 1959; 109:97-114.
 130. **Sharp GC, Irvin, WS, Tan EM, et al.** Mixed Connective tissue disease: An apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen. *Am J Med* 1972; 52:148-159.
 131. **Lerner MR, Steitz JA.** Antibodies to small nuclear RNAs complexed with proteins are produced by patients with systemic lupus erythematosus. *Natl Acad Sci USA* 1979; 76:5495-5499.
 132. **Lerner MR, Boyle JA, Mount SM, et al.** Are RNPs involved in splicing? *Nature* 1980; 283:220-224.
 133. **Petterson I, Hinterberger M, Mimori T, et al.** The structure of mammalian small nuclear ribonucleoprotein. *J Biol Chem* 1984; 259:5907-5914.
 134. **Yang VW, Lerner MR, Steitz JA, et al.** A small nuclear ribonucleoprotein is required for splicing of adenoviral early RNA sequences. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:1371-1375.
 135. **Fischer DE, Reeves WH, Conner GE, et al.** Pulse labeling of small nuclear ribonucleoproteins in vivo reveals distinct patterns of antigen recognition by human autoimmune antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984.
 136. **Mathews MB, Francoeur AM.** The antigen recognizes and binds to the 3' oligoadenylate tail of a small RNA. *Mol Cell Biol* 1984; 4:1134-1140.
 137. **Whittingham S, Naselli G, McNeilage LJ, Coppel RS, Sturgess AD.** Serological diagnosis of primary Sjögrens syndrome by means of human recombinant La (SS-B) as nuclear antigen. *Lancet* 1987; 2:1-3.
 138. **Jerne NK.** The natural-selection theory of antibody formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1955; 41:849-857.
 139. **Flier JS, Kahn CR, Roth J.** Receptors, antireceptor antibodies and mechanisms of insulin resistance. *N Eng J Med* 1979; 300:413-419.
 140. **Benson EA, HoP, WangC, Wu PC, Fredlung PN, Yueng RT.** Insulin autoimmunity as a cause of hypoglycemia. *Arch Inter Med* 1984; 144:2351-2354.
 141. **Moller DE, Ratner RE, Borenstein DG, Taylor SI.** Autoantibodies to the insulin receptor as a cause of autoimmune hypoglycemia in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1988; 84:334-338.
 142. **Burdette S, Schwartz RS.** Network idiotype and anti-idiotype. *N Engl J Med* 1987; 317:219-224.
 143. **Conley CL, Hartman RC.** A hemorrhagic disorder caused by circulating anticoagulant in patients with disseminated lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1952; 31:621-622.
 144. **Frick PG.** Acquired circulating anticoagulants in systemic "Collagen disease": Autoimmune thromboplastin deficiency. *Blood* 1955; 10:691-706.
 145. **Schleider MA, Nachman RL, Jaffe EA, et al.** A clinical study of the lupus anticoagulant. *Blood* 1976; 48:499-509.
 146. **Boxer M, Ellman L, Carvallo A.** The lupus anticoagulant. *Arthritis Rheum* 1976; 19:1244-1248.
 147. **Harris EN, Gharavi AE, Boey ML, et al.** Anticardiolipin antibodies: Detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983; 2:1211-1214.
 148. **Hughes GRV.** Thrombosis, abortion, cerebral disease and the lupus anticoagulant. *Br Med J* 1983; 1088-1089.
 149. **Harris EN, Gharavi AE, Hughes GRV.** Anti-phospholipid antibodies. *Clin Rheum Dis* 1985; 11:591-610.
 150. **Inoue K, Nojima S, Tomizawa T.** The specificity of cardiolipin in the serologic reaction. *J Biochem* 1965; 57:824-826.
 151. Bulletin of the World Health Organization, 1968;39:483.
 152. **Terasaki PI ed.** Histocompatibility Testing, 1970 Copenhagen: Munksgaard; 1970:49.
 153. Bulletin of the World Health Organization 1972; 47:659.
 154. Bulletin of the World Health Organization, 52.
 155. Bulletin of the World Health Organization, 1978; 461.
 156. **Albert ED, et al.** Histocompatibility Testing 1984. Heidelberg, Springer Verlag.
 157. **Shows TB, AlperCA, Boostsma D, et al.** International System for Human Gene nomenclature. *Gene* 1979; 25:96-116.
 158. **Albert Bruce, et al.** Molecular Biology of the cell. New York. Garland publishing Inc., 1983.
 159. **Watkins PC.** Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP): Applications in human chromosome mapping and genetic disease research. *Biotechniques* 1988; 6:310-320.
 160. **Nathans D, Smith HO.** Restriction endonucleases in the analysis of DNA molecules. *Ann Rev Biochem* 1975; 44:273-292.
 161. **Botstein D, et al.** Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am J Hum Genet* 1980; 32:314.
 162. **Simon M.** Establishment of an approved clinical laboratory based on the analysis of restriction fragment length polymorphisms. In Nucleic acid probes in the diagnosis of human genetic diseases. AM Wiley, ed New York: Liss Inc.; 1988:195-216.
 163. **Southern E.** Detection of specific sequences among DNA fragment separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975; 98:503-512.
 164. **Frezal J, Klinger HP, eds.** Human Gene Mapping 9: The Paris conference 1987. *Cytogenetics and Cell Genetics* 1978; 44:1.
 165. **Baird M, Wexier K, Clyne M, Meade E, Ratzlaff L, Smalls G, Benn P, Glassberg J, Blazs I.** The application of DNA-print for the estimation of paternity. Advances in forensic haemogenetics. New York: Springer-Verlag; 1987.
 166. **Bodmer WF.** The HLA system, 1984. Histocompatibility testing 1984. Albert ED, ed. Berlin: Heiberg Springer-Verlag 1984:11-28.
 167. The nomenclature committee on leukocyte antigens. Nomenclature for factors of the HLA systems, 1987. *Immuno genetics*. Springer-Verlag 1988:391-398.
 168. **High KA, Benz EJ, Jr.** The ABC's of molecular genetics: A haematologist's introduction. In: Hoffbrand A V ed. *Recent Adv Haematol*. 1985; 4:25-61.
 169. **Weatherall DJ ed.** The new genetics and clinical practice. New York: Oxford University Press; 1982.
 170. **Parham P.** Function and polymorphism of human leukocyte antigen A-B-C molecules. *Am Journal Med* 1988; 85 (Suppl 6a):2-5.
 171. **Strachan T, Sodoyer R, Damotte M, Jorgan BR.** Complete Sequence of functional class I HLA gene, HLA-A3: implications for the of HLA genes. *EMBO* 1984; 3:887-894.
 172. **Sodoyer R, Damotte M, Delovich TL, Trucy J, Jordan BR, Strachan T.** Complete nucleotide sequence of a gene encoding a functional human histocompatibility antigen (HLA-Cw3). *EMBO J* 1984; 3:879-885.
 173. **Gustafsson K, Wiman K, Emmoth E, et al.** Mutations and selection in the generation of class II histocompatibility antigen polymorphism. *EMBO* 1984;3:1655-1662.
 174. **Kappes DJ, Arnot D, Okada K, Strminger J.** Structure and polymorphism of HLA class II SB lightchain genes. *EMBO J* 1984; 3:2985-2993.
 175. **Sood Ak, Pereira D, Weissman S.** Isolation and partial nucleotide of a cDNA clone for human histocompatibility antigen HLA-B by use of deoxynucleotide primer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78:616-620.
 176. **Cohen D, et al.** DNA polymorphism of HLA class I and class I regions. *Immunol reviews* 1985; 85:87-105.
 177. **Svejgaard A, Platz P, Ryder LP.** Insulin-dependent diabetes mellitus.

- In: Histocompatibility testing Terasochi Ped: UCLA Tissue typing laboratory. Los Angeles 1980:638.
178. **Awdeh ZL, Raum D, Yunis EJ, Alper CA.** Extended HLA complement allele haplotypes: Evidence for T/t like complex in man. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; **80**:259.
 179. **Jorgensen R, Lamm LU, Kissmeyer-Nielsen F.** Mixed lymphocyte culture with inbred individuals. An approach to MLC typing. *Tissue Antigen* 1973; **3**:323.
 180. **Dupont B, Jersild C, Hansen GS, Nielsen LS, Thomsen M, Svejgaard A.** Typing of MLC determinants by means of LD-homozygous and LD-heterozygous reference cells. *Transplant Proc*, **5**:1543.
 181. **Mempel W, Grosse-Wilde H, Barumann P, et al.** Population genetics of the MLC response: typing for MLC determinants using homozygous and heterozygous reference cells. *Transplant Proc* 1973; **5**:1529.
 182. **Núñez G, Giles RC, Ball EJ, Hurley CK, Capra JD, Stansky P.** Expression of HLA-DR, MB, MT and SB antigens on human mononuclear cells: Identification of two phenotypically distinct monocyte populations. *J Immunol* 1984; **133**:1300.
 183. **Albert ED, Baur MP, Mayr WR eds.** Histocompatibility testing 1984. Berlin: Springer, 1984.
 184. **Wake C, Long E, Mach B.** Allelic polymorphism and complexity of the genes for the HLA-DR beta gene. Direct analysis by DNA-DNA hybridization. *Nature* 1982; **300**:372.
 185. **Andersson M, Bohme J, Andersson G, Moler E, Thorsby E, Rask L, Peterson PA.** Genomic hybridization with class II transplantation
 186. **Carlsson B, Bohme J, Lundgren G, Moller E, Petersen PA, Rask L, Ringden O, Wallin J.** HLA class II genes studied with genomic hybridization in kidney and bone marrow transplantation donor-recipient pairs. *Transplant Proc* 1985; **17**:952.
 187. **Wallin J, Bohme J, Carlsson B, Moller E, Peterson PA, Rask L.** HLA class II polymorphism: restriction fragment patterns correlated to Ninth Workshop serology and function. In: Albert ED, Baur MP, Mayr WD eds. Histocompatibility testing 1984. Berlin: Springer; 572-576.
 188. **Moller E, Carlsson B, Wallin J.** Implications of structural class II gene polymorphism for the concept of serologic specificities. *Immunol Rev* 1985; **85**:107.
 189. **Bohme J, Anderson M, Hammerling U, et al.** HLA-DRb genes vary in number between different HLA-DR specificities, whereas the number of DQb genes is constant. *J Immunol* 1985; **135**:2149.
 190. **Shaw S, Johnson AH, Shearer GM.** Evidence for a new segregant series of B-cell antigens that are encoded in the HLA-D region and that stimulate secondary allogeneic proliferative and cytotoxic responses. *J Exp Med* 1980; **152**:565.
 191. **Núñez G, Ball E, Stastny P.** Antigen presentation by adherent cells from human peripheral blood. Correlation between T-cell activation and expression of HLA-DQ and DR antigens. *Human Immunol* 1987; **19**:29-39.
 192. **Heyningen van V, Guy K, Newman R, Steele CM.** Human MHC class II molecules as a differentiation markers. *Immunogenetics* 1982; **16**:459.
 193. **Giles RC, Capra DC.** Structure, function, and genetics of human class II molecules. *Adv Immunol* 1985; **37**:1.
 194. **Dilella A, Huang W-M, Wou SLC.** Screening for phenylketonuria mutations by DNA amplification with the polymerase chain reaction. *Lancet* 1988; **ii**:497-99.
 188. **Kogan SC, Doherty ABM, Gitscher J.** An improved method for prenatal diagnosis of genetic diseases by analysis of amplified DNA sequences. *NEngl J Med* 1987; **317**:985-990.
 189. **Higuchi R, von Beraldin CH, Sensabaugh GF, Erlich HA.** DNA typing from single hairs. *Nature* 1988; **332**:543-46.
 190. **Nicholas L, Philp S, Robert W.** Simple, non-invasive method to obtain DNA for gene analysis. *Lancet* 1988; **ii**:1356-58.
 191. **Ou CZ, Mitchell SW, Krebs J, et al.** DNA amplification for direct detection of human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) in DNA of peripheral mononuclear cells. *Science* 1987; **239**:295-97.
 192. **Shibata DK, Amheim N, Martin WJ.** Detection of human papilloma virus in paraffin-embedded tissue using the polymerase chain reaction. *J Exp Med* 1988; **167**:225-30.