

# La inmunogenética en medicina clínica

## Parte I.

A. Iglesias, E. Egea, G.de Egea, M. Salazar, J. Yunis,  
S. Lechin, I. Yunis, EJ. Yunis

### Una panorámica de la inmunogenética

La historia de la inmunogenética se remonta a finales de la década de 1930, cuando se establecieron tres hechos de importancia en el desarrollo de la medicina: el reconocimiento de los diferentes antígenos de superficie en la membrana de los eritrocitos (1, 2), los antígenos del trasplante de tumores y el desarrollo de cepas congénicas de ratones. Estos dos últimos avances ponen de presente el empleo de los ratones como modelo de animales en el laboratorio.

Peter A. Gorer, quien trabajaba en el Instituto Lister y lo hizo posteriormente en el Hospital Guy de Londres, investigando en trasplante de tumores logró inducir el desarrollo de un sarcoma en el modelo murino y posteriormente pudo trasplantar dicho tumor en cepas diferentes (3,4). Al realizar entrecruzamientos entre estas cepas, por ejemplo (AxC57) F1 y más tarde FlxA y FlxC57 pudo observar que 25% de la progenie F2 y 50% de FlxC57 mostraban resistencia al tumor (3-5). De acuerdo con estas observaciones postuló la existencia de dos genes que controlaban el crecimiento del tumor trasplantado y formuló una teoría inmu-

nológica del desarrollo del trasplante. De esta manera descubrió los aloantígenos H-2 del ratón en 1930, y al trabajar en la serología de los mismos identificó el sistema H-2 en 1936 y dio la base genética del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (3, 4, 7-9). A finales de 1940, Peter B. Medawar, brasileño de padre libanés, educado en Oxford, se interesó en el estudio histológico de los auto y aloinjertos y encontró que al llevar a cabo un primer injerto, éste inducía en el receptor una suplencia vascular seguida por una fase de curación. Sin embargo, al practicar un segundo injerto éste era rechazado antes de alcanzar la fase de curación. Con base en estos hallazgos Gibson y Medawar concluyeron que el primer injerto inducía una sensibilización en el receptor y que por esto el segundo injerto era rechazado rápidamente (11). En esta forma, Medawar pudo aportar tres postulados de importancia en la inmunología del trasplante: el concepto de rechazo agudo evidenciado a través de la respuesta acelerada al segundo injerto, la naturaleza inmunológica de la reacción del aloinjerto y la especificidad de dicha reacción.

Casi simultáneamente en Norteamérica, George D. Snell, quien estudió en el Dartmouth College en New Hampshire y fue discípulo de William E. Castle; el primero en validar el descubrimiento de las leyes de la herencia de Mendel en los mamíferos; analizando los trabajos de Gorer encontró que uno de los principales problemas que se presentaban al estudiar los genes de la resistencia individual, era su gran número; con el fin de solucionar este problema trabajó con varias generaciones de entrecruzamientos, en varias cepas de ratones, obteniendo después de doce generaciones una cepa que difería de uno de los padres en sólo un locus

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

del haplotipo que mediaba la resistencia a los tumores (12). Posteriormente, en 1946, Snell y Gorer deciden compartir sus experiencias, por lo cual Gorer viaja al Jackson Laboratory y prueba los antisueros producidos por los ratones que rechazaban los trasplantes, en las cepas congénicas desarrolladas por Snell (12). De esta manera demostraron que el factor de resistencia se heredaba y que probablemente era un alelo del locus que codificaba para el antígeno II, desarrollado por Gorer (13). En 1948 hicieron el primer bosquejo teórico y en 1949 denominaron el factor de resistencia tumoral como genes de histocompatibilidad (Histocompatibility H genes) y, con el fin de distinguirlos de otros genes individuales, los identificaron por números. Al primer gen de histocompatibilidad, en referencia al antígeno II, lo denominaron histocompatibility-2 abreviándolo como H2, denominación que más tarde se modificó adquiriendo la forma H-2 de manera definitiva. Posteriormente se pudo determinar que los genes H-2 se localizaban en el cromosoma 17 (8, 13). De esta forma se establecieron las bases genéticas del trasplante con énfasis en el modelo murino.

Fue por ese entonces cuando se establecieron las diferentes líneas de estudio en el campo de la inmunogenética: Gorer empezó el método serológico al estudiar anticuerpos contra los antígenos H-2, mediante la hemaglutinación y posteriormente mediante la técnica de la citotoxicidad al trabajar en compañía de O'Gurman (7). Este método fue implementado posteriormente por Bernard Amos, Gustavo Hoecker, Olga Pizarra, Jack H. Stimpfling, Eduardo A. Boyse, Donald D. Shreffler, Peter Demant, Chella S. David y Jan Klein (5). Snell, por el contrario, empleó la inmunología celular, al analizar la histocompatibilidad en los tejidos de los animales trasplantados (14-22), creando de esta manera la base para la aparición posterior de la técnica del cultivo mixto de linfocitos MLR (Mixed Lymphocyte Reaction), la cual fue desarrollada inicialmente por R. Schreck y W.J. Donnelly en 1961 (23). En 1964 Barbara Bain y Lowenstein (24), al plantearse la posibilidad de simular un rechazo de tejidos *in vitro*, decidieron cultivar una mezcla de linfocitos de individuos genéticamente diferen-

tes y observaron que, al quinto día de cultivo, los pequeños linfocitos se transformaban en células más grandes o blastos y que después de dividirse retornaban a su estado normal. Por otra parte Fritz Bach y Kurt Hirschhorn (25) realizaron estos experimentos cocultivando linfocitos murinos de cepas no relacionados y encontraron también la blastogénesis así como la proliferación celular al adicionar mitógenos.

Simultáneamente con estos descubrimientos A. Govats (26) inició el estudio de la linfólisis mediada por células o CML (Cell Mediated Lymphocytotoxicity) (26), al realizar un experimento en el cual trasplantó el riñón de un perro (X) a un perro (Y). Posteriormente obtuvo linfocitos del conducto torácico del perro (Y) y, al cultivarlos con células renales del donador, observó que a las 48 horas estas últimas morían. Esta misma técnica fue desarrollada *in vitro* por K. Theodor Brunner, Jean Charles Cerrotini y Boris D. Brondz (27), Haim Gimsburg y Leo Sachs (28), Pekka Hayri y Vittorio Defendi (29), Richard J. Hodes y Erik A. J. Savedmyr (30). Entre 1974 y 1975 Rolf M. Zinkernagel y Peter C. Doherty (31), Michael J. Bevan (32), Gener M. Shearer (33) y Elizabeth Simpson (34) demostraron la restricción genética del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) en la técnica de la CML. También pudieron determinar que hay dos tipos de mecanismos en este proceso: uno dirigido contra moléculas alogénicas del CMH y no restringido por otras moléculas y otro dirigido contra moléculas, diferentes de la CMH pero restringido por éste. El desarrollo del CML, en español citólisis mediada por células, contribuye en forma importante al estudio clínico de los trasplantes de órganos.

La evidencia de la importancia del CMH en el humano se encuentra asociada con tres nombres: Jean Dausset del Hospital Saint-Louis de París, Rose Payne de Stanford University y Jon Van Rood del Departamento de Inmunohematología de la Academish Ziekenhuis en Holanda (35-40). Dausset, influido por los trabajos de Marcel Bessis, pionero en la exanguinotransfusión en recién nacidos, trató de implementar este método en los adultos y observó que, al transfundir mujeres jó-

venas con aborto séptico, se presentaba una aglutinación de los leucocitos acompañada de leucopenia y trombocitopenia (35). Pensó que este proceso era debido a un factor presente en el suero de las mujeres, que denominó aglutinina; este investigador también encontró que la mayoría de estas pacientes habían recibido múltiples transfusiones por diversos diagnósticos como: anemia aplásica, hipersplenismo, lupus, anemia hemolítica, etc., y que los anticuerpos inducidos aglutinaban las células sanguíneas del donador y no los propios leucocitos (35). Este estudio fue publicado en 1952 (41) y Rose Payne, quien por aquel entonces trabajaba como Research Assistant de la división de hematología de la Universidad de Standford, se interesó por esta línea de trabajo y, además de reproducir las observaciones de Dausset, encontró que las leucoaglutininas estaban presentes en el suero de todos los pacientes que tenían en común el haber recibido múltiples transfusiones (36, 37). También observó que muchos de los pacientes presentaban hipertermia después de la sexta transfusión y pensó que la leucopenia era debida a la producción de anticuerpos contra los antígenos de los leucocitos. Encontró que este tipo de reacción también se presentaba en múltiparas después de recibir solamente una transfusión (36, 37). Esta misma observación la hizo Jon Van Rood, quien concluyó que el embarazo inmunizaba a la madre contra los antígenos que el feto había heredado del padre (39). A finales de la década de los 50 este antígeno recibe diferentes nombres: Dausset lo llamó MAC (35), en honor a la primera letra de los apellidos de los no aglutinadores; Van Rood (38, 39) lo denominó 4a/4b; y Rose Payne, con la ayuda de Walter F. Bodmer, describe tres alelos del antígeno que denomina LA1, LA2 y un blanco.

En 1965 Jean Dausset, Pavol Ivanyi y Dagmar Ivanyi, realizaron estudios amplios de poblaciones y propusieron que la mayoría de los antígenos leucocitarios se encuentran controlados por un solo sistema genético (42). En 1967 Fritz Bach y Bernard Amos demostraron que la proliferación en el MLR era estimulada por los aloantígenos y que era controlada por el CMH al evidenciar que los leucocitos de gemelos idénticos, cultivados en el

MLR, no presentan proliferación (43,44). En ese mismo año Ruggero Ceppellini, quien trabajaba con la genética de los eritrocitos, introdujo el término haplotipo (o mitad del genotipo) y sugirió que los determinantes del CMH se podían dividir en dos series mutuamente excluyentes, controladas por dos loci que denominó A y B (46,47). Previamente, en 1948, Elwood Briles y McGibbon habían descrito la existencia del locus B en el pollo (5). Schiermanse en 1950, y Nurdskog, en 1961, demostraron que los antígenos del locus B se encontraban en el CMH (5). En 1967 Jean Louis Amiel hizo la primera descripción de asociación entre enfermedad y CMH en el caso de la enfermedad de Hodgkin (48). Un comité nombrado por la Organización Mundial de la Salud en 1968, introduce el acronimo HLA para designar este sistema (H = Human, L = Leukocyte y A = Antigen) (5,27). En ese mismo año, Ceppellini y Amos demostraron que el sistema HLA se encontraba comprometido en el rechazo de los injertos cutáneos, y que la supervivencia del trasplante dependía de la identidad de los antígenos del HLA entre el donador y el donante (45).

En 1969 Flemming Kissmeyer-Nielsen y Col (49) emplearon los recombinantes dentro del HLA y al estudiar varias familias por la técnica de segregación individual encontraron que los determinantes del HLA se encontraban codificados por un cromosoma y que eran transmitidos a la progenie en forma de bloque, de esta manera nació la idea de arreglar estos loci en forma lineal estableciéndose el mapa genético del HLA (5, 49). Un año más tarde este mismo grupo demuestra la existencia de un tercer locus al cual denominan C (5, 49, 53). De este modo tenemos que hasta 1970 se tenía conocimiento de tres loci: A, B y C, cuyo producto se conoce como antígenos clase I y en el humano como HLA-A, HLA-B y HLA-C.

En Los Angeles, Paul I. Teresaki, continuando los estudios de Wasserman y Bordet (5, 27, 50, 51), logra reproducir con pequeños volúmenes de antisuero y pequeñas cantidades de suspensión celular la técnica de la microtoxicidad, facilitando de este modo la tipificación y contribuyendo en

forma importante al desarrollo de los trasplantes (52). Yunis y Amos (56), trabajando con familias con haplotipos HLA-A idénticos, encontraron que en algunos casos los individuos presentaban rechazo al trasplante, con lo cual lograron demostrar que el tiempo de rechazo del trasplante tanto cutáneo como de órganos es dependiente de los productos de dos y posiblemente tres sistemas genéticos ligados entre sí a los cuales denominaron: HL A-A; reacción leucocitaria mixta (MLR-S) y reacción de hipersensibilidad retardada (HDR). Así se llegó por primera vez a la sospecha de la existencia de la región D, en el CMH o antígenos clase II. Esto se logró inicialmente mediante la técnica del CMR y posteriormente con el empleo de aloantisueros. En 1973 Katz, Hamaoka y Benacerraf documentan el papel de los antígenos clase II en la restricción de las interacciones celulares entre células T y B (57). Posteriormente Evans, Yunis y Schlossman demostraron que los linfocitos T periféricos humanos en MRL expresan y sintetizan antígenos IA o antígenos de clase II (58).

Un aporte importante en el estudio de la bioquímica, lo constituye el descubrimiento de la B2-microglobulina en Uppsala, ciudad sueca rica en fábricas de baterías y acumuladores. Un grupo de médicos, encabezados por Bergard y Col (59), al estudiar casos de obreros con nefritis intersticial secundaria a intoxicación por níquel o cadmio, encontraron esta proteína en el suero y en la orina y, mediante electroforesis de proteínas, determinaron que migra en la región Beta de las globulinas por lo cual la denominaron B2-microglobulina. Más tarde un estudiante de Bergard, Per A. Peterson (60), en el Instituto Rockefeller en Nueva York, establece su secuencia al igual que el grupo de Smithies (61). Ambos grupos observan la homología entre esta globulina y el tercer dominio de la región constante de la IgG. En 1974 pueden demostrar que esta proteína se encuentra presente en la membrana de las células nucleadas y que se asocia con la molécula del CMH; a este conocimiento se llega con el empleo de técnicas de inmunofluorescencia utilizando anticuerpos anti B2-microglobulina (60). También se puede determinar que su estructura molecular se encuentra

controlada por loci localizados a nivel del cromosoma 15 (62).

Como vemos, hasta el momento, todos los estudios mencionados se relacionan con el papel de los linfocitos T y B, pues hasta la década de los 70 se creía que el macrófago sólo tenía importancia a nivel de la fagocitosis. Friel y col (63) demostraron por primera vez el papel crítico de las células accesorias en la iniciación de la respuesta inmune. Tres años más tarde, Unanue y Askonas (64) pudieron demostrar el aumento de la inmunogenicidad del antígeno al unirse al macrófago mediante un experimento en el cual inyectaron hemocianina marcada con I<sup>131</sup> en la cavidad peritoneal de ratones a los cuales se les había inyectado previamente proteasa-peptona. Se encontró que 80 a 90% de las células eran macrófagos y que, de éstos, 75% contenían hemocianina. Al realizar posteriormente una estimulación secundaria, empleando conjuntamente células linfoides singénicas e inmunocompetentes, determinaron que los macrófagos que contenían al antígeno eran más inmunocompetentes y que, si estos macrófagos eran cultivados in vitro después de la captación del antígeno, las células degradaban y liberaban el I<sup>131</sup> en un lapso entre dos y cinco horas. El paso siguiente en estas investigaciones fue dado por Benacerraf y col (65, 67) quienes demostraron la importancia de las moléculas del CMH en el control genético antígeno-específico. Al trabajar con cobayos descubrieron que las respuestas que inducía un péptido simple, como el antígeno poli-L-lisina (PPL), se encontraban bajo el control de un simple gen autosómico dominante. A este gen responsable se le denominó (Ir) o gen de la respuesta inmune y de esta manera se introdujeron los términos de respondedor o no respondedor para denotar respectivamente la presencia o ausencia de este gen (65, 67). Posteriormente McDevitt y col (68,70) encontraron que el control genético de la respuesta a los copolímeros sintéticos en los murinos también se encontraba relacionada con el CMH.

Shevach y Rosenthal lograron aclarar el papel de los macrófagos y de los genes Ir en la génesis de la respuesta inmune al demostrar que los linfocitos T reaccionan ante los antígenos extraños cuan-

do éstos son presentados por las células presentadoras de antígenos, solamente si existen genes Ir autólogos.

De esta forma, en 14 años de historia (1958-1972), se establecieron los delineamientos generales a nivel de la importancia de los antígenos de clase I y II en el control genético de la respuesta inmune y de la existencia de las interacciones celulares, se desarrolló la inmunología celular y se establecieron los programas de trasplantes. La década de los 80 se encuentra marcada por la era de la biología molecular como herramienta primordial en el estudio de la inmunogenética; sólo el tiempo puede determinar cuál será la moderna historia de la inmunogenética.

### Nacimiento de los talleres

El nacimiento de los talleres se origina en la necesidad que tenían los diferentes laboratorios de unificar el lenguaje científico con el fin de facilitar la comparación de los resultados en sus estudios de tipificación. A comienzos de la década de los 60 los laboratorios que trabajaban en el nuevo campo de la inmunogenética eran los siguientes: Jean Dausset en el Centre Regional de Transfusión Sanguínea en París; Rose Payne y Walter Bodmer en la División de Hematología en la Universidad de Stanford; Jon Van Rood en el Departamento de Obstetricia de la Universidad de Leyden; Flemming Kissmeyer-Nielsen en Aarhus, Dinamarca; Richard Batchelor en East Grinstead, Inglaterra; Roy Walford y Paul I. Terasaki en Los Angeles, USA; Ruggero Cepellini en Torino, Italia y Bernard D. Amos en Duke University, USA. El primer taller, realizado en Washington en 1964, se debe a la iniciativa de Bernard D. Amos quien propuso realizar un primer encuentro entre los laboratorios con el fin de intercambiar experiencias acerca de las técnicas empleadas y de los reactivos con los cuales trabajaban. Posteriormente se trasladaron a la Universidad Duke para comparar en una forma práctica las diferentes técnicas empleadas y lograron concluir que existía un caos total a nivel de la unificación de técnicas y datos, por lo cual se decide continuar llevando a cabo

encuentros periódicos. El segundo taller se realizó en Leyden bajo la presidencia de Jon Van Rood. En esta reunión se concluyó que los diferentes antígenos descritos hasta la fecha: MAC, 4a/4b, LA1, LA2, eran uno solo y que éste era controlado por un solo sistema genético. En este mismo encuentro Dausset, Paul Ivanyi y Dagmar Ivanyi señalaron que la mayoría de los antígenos se encuentran controlados por un solo locus, análogo al H-2 del modelo murino; de esta manera se plantea la posibilidad de la existencia de un Complejo Mayor de Histocompatibilidad en el humano. El tercer taller, uno de los más interesantes, se llevó a cabo en Tormo, Italia, presidido por Ruggero Capellini, fue la última ocasión en que se reunieron los grandes de la inmunología. Al final de 11 días de trabajo, se compararon los resultados concluyéndose que en el humano, al igual que en el ratón, existe una serie compleja de genes que codifican los antígenos leucocitarios, aceptándose la existencia del Complejo Mayor de Histocompatibilidad en el humano. También se plantea la necesidad de lograr una estandarización de la nomenclatura con el fin de comparar los resultados de los diferentes estudios. Un año más tarde, en Virginia, se adopta la nomenclatura HLA empleada actualmente. A fines de la década de los 60 y comienzos de 1970, se presenta el auge de los laboratorios de tipificación, paralelo al inmenso desarrollo de los trasplantes de órganos, gracias al desarrollo de técnicas quirúrgicas más adecuadas y al mayor conocimiento a nivel de CML y MLR. La tremenda importancia de los trasplantes en esta época, queda ejemplarizada por la aparición de numerosas revistas acerca de esta ciencia, tales como: *Transplantation Proceedings*, *Tissue Antigens*, *Immunogenetic*, *Human Immunology*, *Journal of Immunogenetic y Disease Marker*.

A partir del cuarto taller, realizado en Los Angeles y presidido por Paul Terasaki, se modifica la metodología del desarrollo de los trabajos, se realizan los diferentes intercambios de experiencias y se establecen los bancos de sueros. Este taller tiene como característica el permitir la apertura a los médicos de diferentes países interesados en esta disciplina. De esta manera nacen nuevos laborato-

Tabla 1. Alelos, locus y subregiones del CMH.

| Taller                                                                                                                      | Subregión                           |                                                   |                |                                  |                            |                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------|----------------------------------|----------------------------|---------------------------|
|                                                                                                                             | Locus A                             | Locus B                                           | Locus C        | DR                               | DQ                         | DP                        |
| 1967 Torino                                                                                                                 | MAC<br>4a/4b/A2<br>LA1/LA2/<br>Aw28 |                                                   |                |                                  |                            |                           |
| 1970 Los Angeles                                                                                                            | 1, 2, 3, 9, 10,<br>11, 19, 28.      | 5, 7, 8, 12, 13, 14,<br>15, 17, 18, 22, 27.       |                |                                  |                            |                           |
| 1972 París                                                                                                                  | 23, 24, 25, 26,<br>29, 30, 31, 32.  | 16, 21, 35<br>w5.                                 |                |                                  |                            |                           |
| 1975 Aarhus                                                                                                                 | 33, 34, 36, 43.                     | 37, 38, 39<br>40, 41, 42.                         | 1, 2, 3, 4, 5. |                                  |                            |                           |
| 1977 Oxford                                                                                                                 |                                     | 44, 45, 46, 47, 48,<br>49, 50, 51, 52,<br>53, 54. | 6.             | 1, 2, 3, 4,<br>5, 6, 7.          |                            |                           |
| 1980 Los Angeles                                                                                                            |                                     | 55, 56, 57, 58, 59,<br>61, 62, 63.                | 7, 8.          | 8, 9, 10.                        |                            |                           |
| 1984 Munich                                                                                                                 | w66, w68,<br>w69.                   | w64, w65, w67,<br>w70, w71, w72, w73.             |                | w11, w12, w13,<br>w14, w52, w53. | w1, w2, w3                 | w1, w2, w3,<br>w4, w5, w6 |
| 1987 New York                                                                                                               |                                     |                                                   |                | w15, w16,<br>w17, w18.           | w4, w5, w6,<br>w7, w8, w9. |                           |
| Modificado de Klein J. Natural History of the Major Histocompatibility Complex. Wiley -Interscience Publication, 1986: 276. |                                     |                                                   |                |                                  |                            |                           |

dos en USA, México, Colombia, Venezuela, Argentina, Brasil y Costa Rica.

Hasta noviembre de 1987 se habían organizado 10 talleres. El quinto se realizó en París en 1972 y fue organizado por Jean Dausset; el sexto fue llevado a cabo en Aarhus (Dinamarca) presidido por F. Kissmeyer-Nielsen; el séptimo en Oxford (Inglaterra) organizado por W.F. Bodmer. El octavo se realizó nuevamente en Los Angeles, dirigido por Paul Teresaki; el noveno en Munich, dirigido por E.D. Albert y el décimo en noviembre de 1987 presidido por Bo Dupont en la ciudad de Nueva York.

Ha sido interesante el desarrollo de la nomenclatura a partir de 1968. Es en esta época en que se inicia el empleo del prefijo W o w (de Workshop) el cual indica que la caracterización de dicho determinante no ha sido completa y necesita la aprobación después de pasar las pruebas en diferentes laboratorios. En la Tabla 1 vemos la lista de alelos de los diferentes loci y subregiones, así como el taller en el cual fueron aprobados. A partir de 1983

con el desarrollo de la biología molecular; la introducción de la técnica de Southern (Southernblot technique) (73) y el empleo de esta técnica por Orr en 1983 (74); y la implementación de la RFLPs (Restricción Fragment Length Polimorphisms) en el estudio de los antígenos de clase I, asociada con la introducción de las endonucleasas de restricción, técnica desarrollada por Conn y Ascanio (75), la inmunogenética de finales de la década de los 80 se encuentra en la cima de su desarrollo.

#### ABSTRACT

This comprehensive review relates the history of immunogenetics and describes its contributions and practical applications in clinical medicine.

#### REFERENCIAS

1. **Lansteiner K.** Über agglutinationsercheinungen normalen menschlichen Blutes. *Wien Klin Wochenschr* 1901; **14**: 1132-1134.
2. **Lansteiner K, Wiener AS.** An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for Rhesus blood. *Proc Soc Exp Biol Med*. **1940**; **43**: 223.
3. **Gorer PA.** The detection of a hereditary antigenic difference in the blood of mice by means of human group A serum. *J Gen* **1936**; **32**: 17-31.

4. **Gorer PA.** The detection of antigenic differences in mouse erythrocytes by the employment of immune sera. *Br J Exp Pathol* 1936; 17:42-51.
5. **Klein J.** Natural history of the major histocompatibility complex. *Wiley-Interscience publication*, 1986; 1-23.
6. **Gorer PA.** Further studies on antigenic differences in mouse erythrocytes. *Br J Exp Pathol* 1937; 18: 31-36.
7. **Gorer PA, O'Gorman P.** The cytotoxic activity of isoantibodies in mice. *Transplantation Bull* 1956; 3:142-143.
8. **Amos DB, Gorer PA, Mikulska ZB.** An analysis of a system in the mouse (the H-2 system). *PRSLB* 1956; 144: 369-386.
9. **Gorer PA, Mikulska ZB.** Some further data on the H-2 system of antigens. *PRSLB* 1959; 78:176-199.
10. **Gibson T, Medawar PB.** The fate of skin homografts in man. *J Anatomy* 1942; 77: 299-310.
11. **Medawar PB.** The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J Anatomy* 1944; 78: 176-199.
12. **Snell GD.** Methods for the study of histocompatibility genes. *J Genetics* 1948; 49: 87-103.
13. **Gorer PA, Lyman S, Snell GD.** Studies on the genetic basis of tumor transplantation. Linkage between an histocompatibility gene and fuse in mice. *PRSLB* 1947; 135: 499-505.
14. **Snell GD, Smith P, Gabrielson F.** Analysis of the histocompatibility-2 locus in the mouse. *J Nat Can Inst* 1953; 14: 457-480.
15. **Snell GD, Russell E, Fekete E, Smith P.** Resistance of various inbred strain of mice to tumor homotransplants, and its relation to the H-2 allele which each carries. *J Nat Can Inst* 1953; 14:485-491.
16. **Snell GD, Borges PR.** Determination of the histocompatibility locus involved in the resistance of mice of strains C57BL/10-x, C57BL/6-x and C57BL/6KS to C57BL tumors. *J Nat Can Inst* 1953; 14:481-484.
17. **Snell GD.** Histocompatibility genes of the mouse. I. Production and analysis of isogenic resistant lines. *J Nat Can Inst* 1953; 14: 843-877.
18. **Snell GD.** The genetics of transplantation. *J Nat Can Inst* 1953; 14:691-700.
19. **Counce SH, Smith P, Barth R, Snell GD.** Strong and Weak histocompatibility gene differences in mice and their role in the rejection of homografts of tumors and skin. *Ann Surg* 1956; 144: 198-204.
20. **Snell GD.** Histocompatibility genes of the mouse I. Demonstration of weak histocompatibility differences by immunization and controlled tumor dosage. *J Nat Can Inst* 1958; 20: 787-824.
21. **Snell GD, Stevens LC.** Histocompatibility genes of mice. III. H-1 and H-4, two histocompatibility loci in the first linkage group. *Immunology* 1961; 4:366-379.
22. **Snell GD, Bunker HP.** Histocompatibility genes of mice V. Five new histocompatibility loci identified by congenic resistant lines on a C57BL/10 background. *Transplantation* 1965; 3: 235-252.
23. **Schreck R, Donnelly WJ.** Differences between lymphocytes of leukemic and non-leukemic patients with respect to morphologic features, motility and sensitivity to guinea pig serum. *Blood* 1961; 18:561-571.
24. **Bain B, Vas MR, Lowenstein L.** The development of large immature mononuclear cells in mixed leukocyte cultures. *Blood* 1964; 23: 108-111.
25. **Bach F, Hirschhorn K.** Lymphocyte interaction. A potential histocompatibility test in vitro. *Science* 1964; 143: 813-814.
26. **Govarts A.** Cellular antibodies in kidney transplant on. *J Immunol* 1960; 85:516-522.
27. **Klein J.** Immunology. The science of self, non-self discrimination. Wiley-Interscience Publication, 1982:458-459.
28. **Gingsburg H, Sach L.** Destruction of mouse and rat embryo cells in tissue culture lymph node cells from unsensitized rats. *J Cell Comp Physiol* 1965; 66: 199-220.
29. **Hayry P, Defendi V.** Mixed lymphocyte cultures produce effector cells: model in vitro for allograft rejection. *Science* 1970; 168: 133-135.
30. **Hodes RJ, Svedmyr EA.** Specific cytotoxicity of H-2 incompatible mouse lymphocytes following mixed culture in vitro. *Transplantation* 1970; 9:470-477.
31. **Zinkernagel RM, Doherty PC.** Restriction of in vitro T cell mediated cytotoxicity in lymphocyte choriomeningitis within a syngenic or semi-allogenic system. *Nature* 1974; 248: 701-702.
32. **Bevan MJ.** Cross-priming for a secondary cytotoxic response to minor H antigens with H-2 cytotoxic cells which do not cross-react in the cytotoxic assay. *J Exp Med* 1967; 143: 1283-1288.
33. **Scheerer GM, Rehn TG, Garbarino CA.** Cell mediated lympholysis of trinitrophenyl-modified autologous lymphocytes. Effector cell specificity to modified cell surface components controlled by the H-2K and H-2D serological regions of the murine major histocompatibility complex. *J Exp Med* 1975; 151:1348-1364.
34. **Gordon RD, Simpson E, Samelson LE.** In vitro cell-mediated immune responses to the male specific (H-Y) antigen in mice. *J Exp Med* 1975; 142:1108-1120.
35. **Dausset J.** Iso-Leuco-anticorps. *Acta Haematol* 1958; 20: 156-166.
36. **Payne R, Rolfs MR.** Fetomaternal leukocyte incompatibility. *J Clin Invest* 1958; 37:1756-1763.
37. **Payne R.** The development and persistence of leukoagglutinins in parous women. *Blood* 1962; 19: 411-424.
38. **Van Rood JJ, Van Leeuwen A.** Leukocyte grouping. A method and its application. *J Clin invest* 1963; 42:1382-1390.
39. **Van Rood JJ, Eernisee JG, Van Leeuwen A.** Leukocyte antibodies in sera from pregnant women. *Nature* 1958; 181:1735-1736.
40. **Van Rood JJ.** Leukocyte grouping. A method and its application. (Doctoral Thesis). Drukkerij Psmans, Den Haag, 1962.
41. **Dausset J, Nenna A.** Presence d'une leuco-agglutinine dans le serum d'un cas d'aggranulocytose chronique. Paris: *Compt Rend Soc Biol* 1952; 146:1539-1541.
42. **Ivanyi D, Rychlikova M, Sasportes M, Ivanyi P, Dausset J.** Leukocyte antigens and the mixed lymphocytes culture reaction. *Vox Sang* 1967; 12: 186-198.
43. **Bach FH, Amos DB.** H-1 major histocompatibility locus in man. *Science* 1967; 156: 1506-1508.
44. **Amos DB, Bach FH.** Phenotypic expressions of the major histocompatibility locus in man (HLA): Leukocyte antigens and mixed leukocyte culture reactivity. *J Exp Med* 1968; 128: 623-637.
45. **Amos DB, Seigier HF, Soothworth JG, Ward F.** Skin graft rejection between subjects genotyped for HLA. *Transplant Proc* 1969; 1: 342-346.
46. **Cepellini R, Curtioni ES, Mattiuz PL, Miggiano V, Scudeller G, Serra A.** Genetics of leukocyte antigens. A family study of segregation and linkage. Histocompatibility testing 1967. Copenhagen: Munksgaard; 1967:149-185.
47. **Cepellini R, Mattiuz PL, Scudeller G, Vesetti M.** Experimental Allograft transplantation in man I. The role of the HLA system in different genetic combinations. *Transplant Proc* 1969; 1: 385-389.
48. **Amiel JL.** Study of the leukocyte phenotypes in Hodgkin's disease. Histocompatibility testing 1967. Copenhagen: Munksgaard, 1970:79-81.
49. **Kissmeyer-Nielsen F, Sveigaard A, Nielsen LS.** Crossing over within the HLA-system. *Nature* 1969; 224: 75-76.
50. **Bordet J.** Les leucocytes et les propriétés actives du serum chez les vaccins. *Ann Inst Pasteur* 1895; 9: 462-509.
51. **Bordet J, Gengou O.** Sur l'existence des substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens. *Ann Inst Pasteur* 1901; 15: 289-302.
52. **Terasaki PI, McClelland JD.** Microdroplet assay of human serum cytotoxic. *Nature* 1964; 204: 998-1000.
53. **Saunders L, Thorsby E, Kissmeyer-Nielsen F, Lindholm A.** Evidence of a third sublocus within the HLA chromosomal region. Histocompatibility testing 1970. Copenhagen: Munksgaard, 1970: 165-169.
54. **Stickel DL, Seigier HF, Amos DB, Ward FE, Gunnels JC, Price AR, Anderson EE.** Immunogenetic of consanguineous allografts in man: II Correlation of renal allografting with HLA genotyping. *Ann Surg* 1970; 172:160-179.
55. **Stickel DL, Amos DB, Smijewski CM, Glenn JF, Robinson RR.** Human renal transplantation with donor selection by leukocyte typing. *Transplantation* 1967; 5:1024-1028.
56. **Yunis EJ, Amos DB.** Three closely linked systems relevant to transplantation. *USA :Proc Nat Acad Sci* 1971; 68: 3031-3035.
57. **Kats DH, Imaoka T, Benacerraf B.** Cell interactions between histocompatible T and B lymphocytes. Failure of physiologic cooperative interactions between T and B lymphocytes from allogenic donor strains in humoral response to hapten-protein conjugates. *J Exp Med* 1973; 137: 1405.
58. **Evans RL, Faldettat J, Humphreys RE, Prott DM, Yunis EJ,**

- Schilssman SF.** Peripheral human T cells sensitized in mixed leukocyte culture synthesize and express Ia-like antigens. *J Exp Med* 1978; **148**: 1440-1445.
59. **Berggard I, Beam AG.** Isolation and properties of a low molecular weight B2-microglobulin occurring in human biological fluids. *J Biol Chem* 1968; **243**:4095-4103.
  60. **Peterson AP, Cunningham BA, Berggard I, Edelman GM.** B2-microglobulin. A free immunoglobulin domain. *Proc Nat Acad Sci* 1972; **69**: 1697-1701.
  61. **Smithies O, Poulik MD.** Dog homologue of human B2-microglobulin. USA: *Proc Nat Acad Sci* 1972; **69**: 2914-2917.
  62. **Goodfellow PN, Jones EA, van Heyningen V, Solomon E, Bobrow M, Miggiano V, Bodmer WF.** The beta 2 microglobulin gene is on chromosome 15 and not in the HLA region. *Nature* 1975; **254**: 267-268.
  63. **Frie PC, Benacerraf B, Thorbecke GT.** Phagocytosis of the antigen, a crucial step in the induction of the primary response. USA: *Proc Nat Acad Sci* 1965; **53**: 20.
  64. **Unanue ER, Askonas BA.** Persistence of immunogenicity of antigen after uptake by macrophages. *J Exp Med* 1968; **127**: 915.
  65. **Levine BB, Ojeda A, Benacerraf B.** Studies on artificial antigens. III. The genetic control of the immune response to hapten poly-L-lysine conjugates in guinea pigs. *J Exp Med* 1963; **118**: 953.
  66. **Levine BB, Benacerraf B.** Genetic control in guinea pigs of the immune response to conjugates of haptens and poly-L-lysine. *Science* 1956; **147**: 517.
  67. **Benacerraf B, Bluestein HG, Green I, Ellman L.** Specific immune response genes of guinea pigs. *Progress in Immunology*. In Amos B, ed. *First International Congress of Immunology*. New York: Academic Press 1971.
  68. **McDevitt HO, Sela M.** Genetic control of the antibody response. I. Demonstration of determinant specific differences in response to synthetic polypeptide antigens in two strains of inbred mice. *J Exp Med* 1965; **122**: 517.
  69. **McDevitt HO, Chinitz A.** Genetic control of antibody response: Relationship between immune response and histocompatibility (H-2) type. *Science* 1969; **163**: 1207.
  70. **McDevitt HO, Deak BD, Schrefner DC, Klein J, Stimpning JH, Snell GD.** Genetic control of the immune response. Mapping of the Ir locus. *J Exp Med* 1972; **135**:1259.
  71. **Rosenthal AS, Shevach EM.** Function of macrophages in antigen recognition by guinea pig T lymphocytes. I. Requirement for histocompatible macrophages and lymphocytes. *J Exp Med* 1973; **138**:1194.
  72. **Kunkel HC, MannikM, Willimas RC.** Individual antigenic specificity of isolated antibodies. *Science* 1963; **140**: 1218-1219.
  73. **Southerne A.** Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Bio* 1975; **98**: 503.
  74. **Orr HT.** Use of southernblotting to analyze the size and restriction fragment polymorphism of HLA class I DNA in the human population. *Transpl Proc* 1983; **15**: 1900.
  75. **Cann HM, Ascanio L.** Polymorphic restriction endonuclease fragment segregates and correlates with the gene for HLA-B8. USA: *Proc Nat Acad Sci* 1983; **80**: 1665.