



Artículos originales

Proyecto Panamá-Dono: El banco de donantes voluntarios de células progenitoras hematopoyéticas. Una nueva alternativa terapéutica en Panamá.

Alejandro Vernaza-Kwiers *, Elena Blake *, Yina Gutiérrez *, Luis Ortiz *, Juan Moscoso*, Cesar Cuero **.

Palabras claves:

banco de donantes, células progenitoras, autólogo, alogénico.

Keywords:

adonation bank, progenitor cells, autologous, allogenic.

*Laboratorio de Trasplante, Caja de Seguro Social, Panamá,
** Organización Panameña de Trasplante.

Comunicación a:
Lic. Alejandro Vernaza K.,
al_ve_maza@hotmail.com

Resumen

Introducción: El trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) constituye una alternativa terapéutica para curar enfermedades hematológicas malignas. En ausencia de donante idéntico (DI) y un donante haploidéntico (DHI), la otra alternativa que para conseguir un donante compatible, es el PROYECTO PANAMA-DONO, o base de datos para búsqueda de donantes voluntarios de células (DVCPH). **Objetivo:** 1. Conocer el número de pacientes con enfermedades hematológicas que no tienen acceso a la terapia de injerto con CPH por carecer de donante idéntico y brindarles una nueva alternativa terapéutica. 2. Desarrollar un algoritmo que incluya los procesos necesarios para la selección de donantes voluntarios no relacionados con los pacientes que carecen de DI y DHI. **Metodología:** Se estudiaron 360 pacientes con enfermedades hematológicas y su grupo familiar que reúnen los factores para trasplante alogénico de CPH, estudiados en el Laboratorio de Trasplante del Complejo Hospitalario desde 2007 hasta septiembre de 2014, en búsqueda de donante idéntico para el receptor. **Resultados:** La alta frecuencia de receptores nacionales sin donante alogénico idéntico (63.0%) en su grupo familiar hace imperativo el establecimiento de un banco de donantes no relacionados a fin de establecer una nueva alternativa de injerto de CPH. La utilización de donantes voluntarios del programa PANAMA-DONO, conlleva el desarrollo de un algoritmo para su utilización, que se aplicó en la evaluación de estos potenciales donantes. **Conclusiones.** 1. Un total de 227 pacientes de un universo de 360 grupos (63.0%), en este estudio no tuvieron familiar alogénico idéntico, por lo que no tienen acceso a la terapia de injerto con CPH. A estos pacientes la Base de Datos del Banco de donantes no relacionados les brinda una nueva alternativa terapéutica. 2. Se desarrolló y se cuenta con un algoritmo que incluye los procesos necesarios para la selección de donantes voluntarios no relacionados con los pacientes que carecen de DI y DHI.

Abstract

Introduction: Transplantation of hematopoietic progenitor cells (CPH) is a therapeutic alternative to treat hematologic malignancies. In the absence of identical donor (DI) and a haploidentical donor (DHI), the other alternative than to get a match, is PANAMA-DONO PROJECT or database to search for volunteer donor cells (DVCPH). **Objective:** 1. To know the number of patients with hematological diseases who have no access to therapy graft CPH for lack of identical donor and provide a new therapeutic alternative. 2. Develop an algorithm that includes the processes required for the selection of unrelated volunteer donors with patients who lack DI and DHI. **Methods:** 360 patients with hematological diseases and their families who meet the factors allogeneic MHC, studied at the Hospital's Transplant Laboratory from 2007 to September 2014, seeking the same donor to the receiver were studied. **Results:** The high frequency of national receivers without identical allogeneic donors (63.0%) among relatives becomes imperative to establish a bank of unrelated donors to establish a new alternative graft CPH. The use of donor volunteers PANAMA DONO program, I entail the development of an algorithm for use, which was applied in the evaluation of these potential donors. **Conclusions.** 1- A total of 227 patients from a universe of 360 groups (63.0%) in this study had no family allogeneic identical, so you do not have access to therapy graft CPH. This patient's database of unrelated donors gives a new therapeutic alternative [2]. It includes an algorithm that includes the processes required for the selection of unrelated volunteer donors with patients who lack DI and DHI.

R M P

2014; Volumen 34:2(25-30)

En Panamá el Programa de Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) modalidades donante autólogo y alogénico se inicio en el año 2000 y hasta el 2014 se han trasplantado 327 receptores.

El trasplante de CPH constituye una alternativa terapéutica para curar enfermedades hematológicas malignas, y otros desordenes hematológicos o inmunológicos. Entre las diferentes modalidades de trasplante de CPH, la más frecuente es el uso de hermanos como donantes idénticos (DI) que comparten los dos haplotipos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) o Sistema de Leucocitos Humanos (HLA) [1]. Los trasplante con mejor compatibilidad HLA entre receptor y el donante se ha establecido que incrementa la sobrevida del injerto [2-5].

En ausencia de donante idéntico, otra alternativa es el donante haploidéntico (DHI), mediante el uso de un hermano o un progenitor que comparten un haplotipo, o seis genes localizados en el cromosoma del par homólogo seis, que han heredado de un progenitor y para los cuales los otros seis genes HLA no son incompatibles.

Ante la ausencia de DI o DHI, la otra alternativa que hemos desarrollado para conseguir un donante compatible, es el PROYECTO PANAMA-DONO, o base de datos para búsqueda de donantes voluntarios de células (DVCPH), entre personas que han manifestado expresamente su voluntad de formar parte del Banco de Donantes Voluntarios No Relacionados y que como compatibilidad tienen como mínimo 8/8 alelos del Sistema HLA o que comparten alelos con característica de ser idénticos a los antígenos maternos no heredados, a los cuales el receptor ha creado tolerancia inmunológica, y que producen un efecto tolerogénico [6,7].

Esta Base de Datos del PROYECTO PANAMA DONO, permite tener una fuente permanente de posibles donantes voluntarios compatibles con los pacientes que no tienen DI o DHI, y la información obtenida nos permitirá seleccionar al donante más compatible utilizando el "PROGRAMA SELECTOR" mediante el cual podemos seleccionar el mejor donante en base a la compatibilidad HLA con el receptor.

En Panamá, al presente se efectúan trasplantes con DI y en 2012 se inició con DHI, pero la falta de una Base de Datos de donantes no Relacionados (DVCPH), ha impedido el uso de esta alternativa, por lo cual un gran número de pacientes no tienen acceso a esta terapia de Trasplante para su enfermedad hematológica.

El objetivo del presente trabajo es:

1. Conocer el número de pacientes con enfermedades hematológicas que no tienen acceso a la terapia de injerto con CPH por carecer de donante idéntico y brindarles una nueva alternativa terapéutica.

2. Desarrollar un algoritmo que incluya los procesos necesarios para la selección de donantes voluntarios no relacionados con los pacientes que carecen de DI y DHI.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población estudiada

El estudio comprende 360 pacientes con enfermedades hematológicas que reúnen los factores para trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas y su grupo familiar, estudiados en el Laboratorio de Trasplante del Complejo Hospitalario desde 2007 hasta septiembre de 2014, en búsqueda de donante idéntico para el receptor determinando los alelos HLA de los loci -A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1. Del Sistema HLA, ubicado en el brazo corto del cromosoma 6, región 6p21.3 [8].

Los pacientes procedían de los programas de trasplante de CPH del Complejo Hospitalario Dr. AAM, el Instituto Oncológico, Hospital del Niño, Hospital de Especialidades Pediátricas y Hospital Rafael Hernández.

A los potenciales donantes que no resultaron como donantes se les invitó a formar parte del Proyecto Panamá-Dono, para lo cual firmaban un consentimiento informado y donaban sus muestras de sangre para hacer el estudio HLA que comprende determinación de grupo sanguíneo, tipificación HLA en baja resolución para alelos HLA-A, -B, -C, DRB1, DQB1, DPB1, nombre, cédula, edad, número de identificación de ADN.

En el período del estudio se evaluaron varios receptores y sus potenciales donantes voluntarios no relacionados. Ambos eran de ambos sexos, con edades entre 15 a 60 años, y provenían de todas las áreas geográficas del país. Los receptores tenían diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia, síndrome mielodisplásico, anemia aplásica, enfermedad de Hodgkin y metaplasia.

El consentimiento informado fue documentado y obtenido de los pacientes y donantes, en concordancia con la Declaración de Helsinki y todos los casos cumplieron con la debida solicitud médica.

Se evaluó una serie de pruebas de tecnología de punta en el estudio de donantes y receptores como: TIPIFICACION MOLECULAR DEL SISTEMA HLA.

Un total de 110 alelos HLA fueron estudiados inicialmente en baja e intermedia resolución para cada receptor y donante, (21 genes de locus de HLA-A, 35 de HLA-B, 13 de HLA-C, 13 de HLA-DR, 7 de HLA-DQ y 19 de HLA-DP) [9] y los genes HLA se definieron mediante la herencia genotípica de cada cromosoma del par homó-

logo seis, utilizando para baja y media resolución el método de la reacción de la cadena polimerasa y secuencia específica de cebadores (DNA- PCR-SSP (Olerup Com.) [9].

Una vez seleccionado el mejor donante voluntario compatible con el receptor, se verifica la tipificación HLA del receptor y donante, utilizando la técnica DNA- PCR-SSP de alta resolución (Olerup Comby Trays) y a partir de septiembre de 2014 la tipificación por secuenciación (Applied Biosystems 3500 Genetica Analyzer, Life Technologies Corporation, 2013), que permite estudiar la secuencia de nucleotidos de exones 2, 3, 4 de los alelos Clase I (HLA-A, -B, -C) y de exones 3, 4 de los alelos de Clase II (HLA-DRB1, DQB1, DPB1*) lo cual permite definir un total de 5,300 alelos del Sistema HLA para los cuatro primeros dígitos según la Nomenclatura del Sistema HLA [10,11].

ESTUDIOS DE TAMIZAJE, IDENTIFICACION DE ANTICUERPOS Y PRUEBA CRUZADA ESPECÍFICA

Previo a seleccionar el donante voluntario más compatible, es necesario efectuar estudios de tamizaje e identificación de anticuerpos para determinar sensibilización específica del receptor a los antígenos HLA Clase I, II contra el donante, en el suero del receptor [12,13,14,15].

Se utiliza el método LIFE CODES, (Life Screen Deluxe Beads- LMX) que detecta anticuerpos tipo IgG contra a los antígenos HLA Clase I y II, mediante perlas Luminex conjugadas con anticuerpos.

Un anticuerpo anti-Ig G humano conjugado con ficoeritrina se añade y la muestra se analiza en el Equipo Luminex. Una señal positiva indica presencia de

anticuerpo en el receptor contra antígenos presentes en el donante.

En el caso de que el receptor tenga anticuerpos anti-HLA en el suero, es necesario identificar estos anticuerpos (método LIFE CODES LSA Class I, II) para evitar rechazo humoral huésped vs injerto y evitar que el donante seleccionado posea alelos HLA contra los cuales el receptor ha creado anticuerpos anti-HLA.

Adicionalmente, se requiere efectuar Prueba Cruzada específica receptor vs donante utilizando suero fresco del receptor y moléculas HLA del donante seleccionado. (LIFECODES Donor Specific Antibody –DSA).

Determinación de genes KIR activadores o inhibidores de las células asesinas

El procedimiento de tipificación LIFECODES KIR SSO se basa en el uso de sondas de nucleótidos consenso fijadas a microesferas que hibridizan con bandas simples de ADN del donante en estudio, amplificado por PCR [16, 17,18,19].

Un total de 100 diferentes microesferas Luminex marcadas con las sondas de nucleótido son analizadas por el Equipo Luminex (Plataforma XY, LIFE MATCH TEPNEL LIFECODES).

Cada microesfera marcada con su sonda de nucleótido específica de genes KIR, puede ser analizada por su señal fluorescente. El análisis de los resultados generados por esta tipificación SSO se utiliza para determinar la presencia o ausencia de una secuencia de ADN específica que hibridiza e identifica el genotipo KIR de la muestra.

Cuadro 1. Grupos de familia estudiados en programa de injerto de médula osea 2007-2014

AÑO	COMPLEJO HOSPITALARIO			INSTITUTO ONCOLOGICO			HOSPITAL DEL NIÑO		
	GRUPOS	CON DONANTE IDENTICO	SIN DONANTE IDENTICO	GRUPOS	CON DONANTE IDENTICO	SIN DONANTE IDENTICO	GRUPO	CON DONANTE IDENTICO	SIN DONANTE IDENTICO
2007	18	9	9	17	5	12	3	1	2
2008	18	8	10	15	3	12	6	1	5
2009	25	10	15	11	6	5	9	3	6
2010	23	8	15	8	7	1	7	5	2
2011	22	5	17	12	3	9	5	2	3
2012	28	10	18	22	8	14	8	3	5
2013	35	10	25	29	15	14	8	1	7
2014	15	4	11	14	5	9	2	1	1
TOTAL	184	64(34.7%)	120(65.2%)	106	52(40.6%)	76(59.3%)	48	17/35.4%	31(64.5%)
TOTAL DE GRUPOS FAMILIARES EESTUDIADOS EN PANAMA					360 (100%)				
TOTAL GRUPOS FAMILIARES CON DONANTE IDENTICO:					133 (36.9%)				
TOTAL GRUPOS FAMILIARES SIN DONANTE IDENTICO:					227 (63%)				

Extracción de ADN

La extracción del ADN genómico se efectuó mediante el uso de sangre periférica anticoagulada con EDTA y las técnicas de extracción “Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega), Maxwell 16 LEV Blood DNA Kit (Promega) y QIAmp DNA Mini Kits for genomic DNA (QIAGEN) (La concentración de ADN fue ajustada a 25 ng/ul.

Algoritmo del Programa PANAMÁ-DONO

El algoritmo del Proyecto PANAMÁ DONO (Figura No. 1) describe una serie de etapas que comprenden: solicitud del médico, extracción de sangre periférica, tipificación de Grupo sanguíneo ABO ,Rho, y tipificación HLA del receptor y de posibles donantes para los alelos de loci HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1, en baja y media resolución, prueba cruzada específica receptor vs donante, genotipificación de genes KIR del donante, conservación de suero y ADN de ambos, uso del Programa HLA-Match Maker para determinar incompatibilidades. Ante la ausencia de un donante idéntico (12/12 alelos HLA) o haploidéntico con efecto tolerogénico a los

Cuadro 2. Registro de donantes voluntarios en Panamá Dono.

Mes-Año	Núm. De donates en registro	Núm. De receptores en búsqueda de donantes
30 de junio 2013	73	20
31 julio 2013	89	27
13 sept. 2013	104	28
8 oct. 2013	109	39
19 nov. 2013	114	44
18 dic. 2013	128	48
16 en. 2014	131	50
5 feb.2014	139	53
11 marzo 2014	140	54
11 abril 2014	143	57
14 mayo 2014	146	61
10 junio 2014	150	63
25 julio 2014	153	64
28 agosto 2014	161	67
10 sept. 2014	166	69
21 oct. 2014	170	70

Total: donantes voluntarios registrados: 170

Total de receptores sin donante y con búsqueda en Panamá dono: 70.

antígenos maternos no heredados, se inicia la búsqueda de DVCPH en la Base de Datos del PROGRAMA SELECTOR.

RESULTADOS

Desde 2000 al presente año 2014 se han efectuado 327 trasplantes de células hematopoyéticas. Del 2007 al 2014 se estudiaron 360 grupos familiares en hospitales con licencia para efectuar trasplante de células progenitoras hematopoyéticas en búsqueda de donante familiar alogénico idéntico. (Cuadro No. 1)

Del total de grupos estudiados, 133/360 (36.9%) tuvieron donante familiar alogénico idéntico para los dos haplotipos (12/12 genes HLA) y 227/360 grupos (63.0%) no tuvieron familiar alogénico idéntico. Del Complejo Hospitalario se estudiaron 184 grupos familiares, y 64/184 (34.7%) tuvieron donante alogénico idéntico y 120/184 (65.2%) sin donante idéntico.

En el Instituto Oncológico se estudiaron 128 grupos familiares, 52/128 (40.6%) tuvieron donante alogénico idéntico y 76/128 (59.3%) sin donante idéntico. En el Hospital del Niño se estudiaron 48 grupos familiares, 17/48 (35.4%) tuvieron donante alogénico idéntico y 31/48 (64.5%) no tuvieron donante idéntico.

La alta frecuencia de receptores nacionales sin donante alogénico idéntico (63.0%) en su grupo familiar hace imperativo el establecimiento de un banco de donantes no relacionados a fin de establecer nueva alternativa de injerto de CPH.

Desde junio de 2013, se inicio la identificación y recopilación de donantes voluntarios entre los familiares estudiados que no han resultado donante efectivo. Un total de 170 donantes voluntarios han dado su consentimiento desde entonces para ser incorporados a la Base de Datos del Banco de donantes no relacionados al cual se le llama Programa PANMA-DONO (Cuadro No. 2).

Desde entonces un total de 70 receptores sin donante idéntico han sido sometidos al proceso de búsqueda de donante utilizando a los inscritos en el programa Panamá Dono. Los únicos receptores que calificaron por el factor compatibilidad para trasplante con donante voluntario no relacionado fueron; un paciente con 9 alelos de 12, (1.4%); dos pacientes con 7 alelos de 8 (2.9%) y ocho pacientes con 6 alelos de 8 (11.4%) (Cuadro No. 3).

El Hospital con mayor número de receptores con búsqueda en PANAMA DONO es el Complejo Metropolitano con 51.4% (36/70), luego el Instituto Oncológico con 31.4% (22/70), el Hospital del Niño con 12.8% (9/70), el Hospital de Especialidades Pediátricas con 2.8% (2/70), y el Hospital Rafael Hernández con 1.4% (1/70).

La utilización de donantes voluntarios del programa PANAMA DONO, conlleva el desarrollo de un algoritmo para su utilización, que se aplicó en la evaluación de estos potenciales donantes. (Figura 1).

tes voluntarios con otros centros que al igual que Panamá cuenten con esta base .

DISCUSIÓN

Un alto porcentaje (63%) de los receptores panameños de CPH no tienen acceso al trasplante por carecer de donante idéntico en su grupo familiar, y la creación de este Proyecto beneficia a esta población al poder contar con la posibilidad de encontrar donante voluntario no relacionado compatible.

El Programa PANAMÁ-DONO creado en el Laboratorio de Trasplante de la Caja de Seguro Social de Panamá hace realidad esta posibilidad de terapia al contar con una base de datos que incluye donantes voluntarios debidamente tipificados y que han otorgado su consentimiento de ser altruistas con la población de pacientes que padecen enfermedades hematológicas y que no cuentan con donante idéntico.

El acceso a esta terapia es una realidad en Panamá y a nivel mundial y es conocido por análisis multivariados, que el único factor del donante asociado con la supervivencia del paciente es la compatibilidad HLA, ya que no se ha encontrado asociación entre la edad del donante y la supervivencia del paciente [4].

El incremento de los donantes voluntarios permitirá en el futuro aumentar la probabilidad de encontrar donantes compatibles en el Programa PANAMÁ-DONO.

El acceso a esta terapia es ahora posible al contar con una población de donantes voluntarios que han sido tipificados para este Sistema HLA (-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1).

Si la compatibilidad HLA influye en el éxito del injerto de células progenitoras hematopoyéticas, hay factores del receptor como la edad, diagnóstico de la enfermedad, estado de la enfermedad, estado de CMV, y grupo étnico que son los factores más críticos que predicen la supervivencia y deben ser tomados en cuenta en la decisión final de efectuar el trasplante con estos donantes [4].

Además, al contar con esta base de datos en Panamá, podemos incorporarnos a los Programas Mundiales de intercambio y optar por conseguir recíprocamente donan-

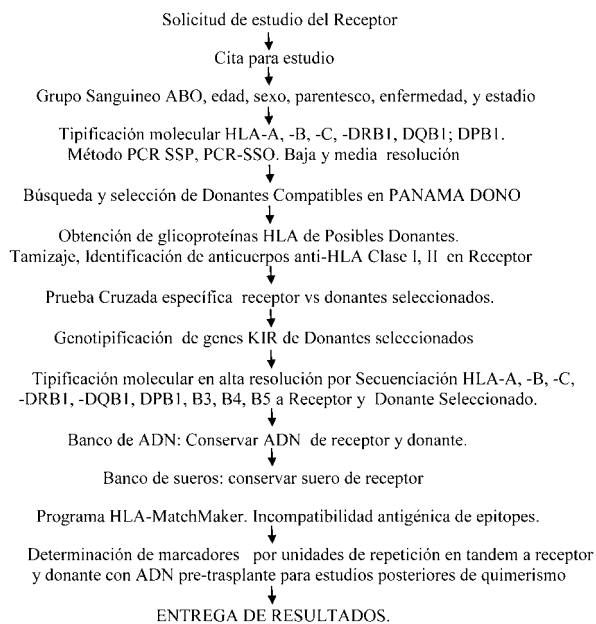
Al no encontrar compatibilidad idéntica familiar (8/8 alelos) en un donante, es necesario iniciar la búsqueda para encontrar un donante completamente compatible y el clínico debe valorar entre el riesgo del progreso de la enfermedad cuando la búsqueda será prolongada.

En la mayoría de los casos, las consecuencias adversas

Cuadro 3. Búsqueda de compatibilidad HLA en PANAMÁ-DONO

Alelo compatible/ total	Núm. de Receptores	%
12-Sep	1	1.4
8-Jul	2	2.9
8-Jun	8	11.4
8-May	17	24.3
8-Apr	12	17.1
8-Mar	13	18.6
8-Feb	1	1.4
6-May	1	1.4
6-Apr	4	5.7
6-Mar	4	5.7
6-Feb	2	2.9
TOTAL	70	100%

Figura 1. Algoritmo de base de datos del programa Panamá Dono y programa selector.



de un donante HLA parcialmente incompatible es menos peligroso que esperar que la enfermedad avance y ofrece mejor pronóstico que otros tratamientos disponibles.

El trasplante expedito con el mejor donante disponible, aun cuando sea incompatible, puede ofrecer la mejor oportunidad de sobrevivida.

Estudios realizados en la población panameña [9], nos permiten conocer los genes y haplotipos HLA de mayor frecuencia, lo que facilita la probabilidad de encontrar un donante no relacionado compatible con el receptor cuando se inicia la búsqueda en PANAMÁ-DONO.

Con los resultados de tipificación HLA del receptor y los posibles donantes de la base de datos en baja e intermedia resolución y utilizando la frecuencia de genes HLA de la población panameña, podemos tener la probabilidad de que un determinado receptor sin donante idéntico pueda encontrar un donante en la población panameña que han consentido ser donantes voluntarios.

CONCLUSIÓN

1. Un total de 227 pacientes de un universo de 360 grupos (63.0%), en este estudio no tuvieron familiar alogénico idéntico, por lo que no tienen acceso a la terapia de injerto con CPH. A estos pacientes la Base de Datos del Banco de donantes no relacionados les brinda una nueva alternativa terapéutica.

2. Se desarrolló y se cuenta con un algoritmo que incluye los procesos necesarios para la selección de donantes voluntarios no relacionados con los pacientes que carecen de DI y DHI.

AGRADECIMIENTOS

A los doctores Ricardo Aguilar, Ninotschka Mendoza, Dimas Quiel, Alexis Pinto, Carlos Montero, Rafael Aparicio, Fernando Díaz, Lineth López [4], Ernesto Fanilla [5], Luis Franceschi [5], Carlos Rodríguez [5], Benito Castillo, Natalie Buitrón, Ilze Rodríguez [6], Diana Cedeño, Bélgica Moreno. Al Sr. Javier Sugar, y la Sra. Irma Correa.

REFERENCIAS

- [1] Bodmer WF: The HLA System: introduction. *Br Med Bull* 1978;34[3]:213-216
- [2] Sasazuki T, Juli T, Morishima Y et al. Effect of matching of class I HLA on clinical outcome after transplantation on hematopoietic stem cells from an unrelated donor. *Japan Marrow Donor Program. N Engl J Med.* 1998;339 [17]:1177-1185.
- [3] Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H. et al. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood,* 2002;99[11]:4200-4206.
- [4] Lee SJ, Klein J, Haagenson M, et al. High resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. *Blood.* 2007;110[13]:4576-4583.
- [5] Kawase T, Morishima Y, Matsuo K. et al. High risk HLA allele mismatches combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implications for its molecular mechanism. *Blood.* 2007;110[7]:2235-2241
- [6] Petersdorf EW, Malki M, Gooley TA, Martin PJ, Guo Z. MHC haplotype matching for unrelated hematopoietic cell transplantation. *Plo S Med.* 2007;4[1]:e8.
- [7] Tay GK, Witt CS, Christiansen FT. et al. Matching for MHC haplotypes results in improved survival following unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1995;15[3]:381-385.
- [8] MHC Sequencing Consortium. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *MHC Sequencing Consortium. Nature.* 1999; 401:921-923.
- [9] Vernaza A, Cuero C, Moscoso J, Ortiz, Gutiérrez Y, Blake E. Frecuencia de genes HLA en la población panameña. *Revista Médica de Panamá.* En Publicación.
- [12] Klein J. Saeto. *The HLA System.* N. Engl. J. Med. 2000;343:702 and 343:782.
- [13] Parham P. *The Immune System.* Garland Publishing. N.Y. and London. 2000, 55.
- [14] Rodey, GE. *HLA beyond Tears* (2a. Edition) DeNovo, Inc. Durango CO, 2000; 163.
- [15] McKenna, RM, Takemoto SK; Terasaki PI., *Anti- HLA Antibodies after Solid Organ Transplantation.* *Transplantation* 2000;69:319.
- [16] Hsu, K. y col. *The Journal of Immunology* 169: 5118, 2002
- [17] Crum, KA . et al. *Tissue Antigens* 56:313, 2000.
- [18] Vilches, C and Parham, p. *Ann. Rev. Immunol.* 20. 217, 2002.
- [19] Marsh, SGE, et al. *Human Immunol,* 64:648, 2003