

DIABETES MELLITUS INSULINO-DEPENDIENTE Y ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD B8 Y B15

Martín Varela Vindas.*
José Luis Rodríguez Montoyo*

Sonia Núñez Núñez*

Minor Díaz Díaz*
Orlando Ordóñez Goni*

PROLOGO.

En la actualidad, en Medicina, todos los fenómenos biológicos, sociales, económicos y políticos en relación con las enfermedades requieren ser cuantificados y analizados de acuerdo al método epidemiológico, para que sus resultados tengan validez y puedan ser empleados en el tratamiento y prevención de enfermedades; o bien, al diseño de nuevos trabajos de investigación. La cátedra de epidemiología tiene por objetivos enseñarnos a planear, diseñar y analizar problemas de salud pública. En nuestro país es reconocida la importancia de la Diabetes Mellitus como problema de salud pública (6-7-8); la heterogeneidad clínica de la enfermedad nos hizo analizar la relación entre los antígenos de histocompatibilidad y la Diabetes Mellitus (1, 9), ya que un número cada vez mayor de autores describen una relación positiva entre HLA y Diabetes Mellitus juvenil. Todo lo anterior, aunado a la necesidad de establecer una clara diferencia entre Diabetes Mellitus juvenil y la adulta, fue lo que nos motivó a realizar este trabajo. Este trabajo fue posible realizarlo gracias a la colaboración de los doctores Eric Mora Morales, Jefe del Servicio de Endocrinología del Hospital Calderón Guardia; Juan de Dios Cartín Herrera, Rodrigo Morera Villalobos y Aurora Arbizu del Laboratorio Clínico del Hospital Calderón Guardia; Yadira Estrada Molina y Alba Rosa Loría del Servicio de Endocrinología del Hospital Nacional de Niños. A todos ellos, nuestro sincero agradecimiento.

INTRODUCCION.

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizado por la intolerancia a la glucosa. Tal heterogeneidad implica que diferentes factores etiológicos, genéticos y ambientales pueden producir fenotipos similares. Sobre bases clínicas, bioquímicas,

hallazgos inmunológicos y patológicos, así como también estudios en familias y según Nerup y colaboradores, la DM puede clasificarse en 5 tipos nosológicos diferentes:

- 1— Diabetes Mellitus insulino-dependiente (DMID)
- 2— Diabetes Mellitus insulino independiente (DMII)
- 3— Diabetes Mellitus insulino-independiente en la juventud
- 4— DM o intolerancia a la glucosa asociada a síndromes genéticos
- 5— Diabetes secundaria.

Los HLA son la respuesta a la heterogeneidad clínica y fisiológica entre la DMID, acidótica en personas delgadas, y la DMII, no acidótica en personas obesas (3). Los HLA son un tipo de marcadores genéticos que implican susceptibilidad genética individual, pero no un modo de herencia determinado.

— Qué es un marcador genético?

Hay tres categorías principales de marcadores genéticos:

- 1— Subclínicos
- 2— De asociación
- 3— De unión

Los subclínicos son parámetros usados para detectar el genotipo anormal en ausencia del fenotipo completo (V.G. tolerancia anormal a la glucosa en diabéticos). Estos marcadores representan anomalías en la patogénesis directa de la enfermedad. Son muy útiles, ya que individuos con el genotipo anormal pueden no manifestar la enfermedad (penetrancia variable), o hacerlo en forma poco aparente (expresividad variable); también puede ser que aparezca en edades tardías de modo que individuos jóvenes son clínicamente sanos y normales. También sirven para detectar heterogeneidad dentro de un síndrome clínico. En genética humana, a menudo se confunden los conceptos de asociación y de unión. Se habla de asociación cuando cierta enfermedad ocurre más corrientemente con un alelo particular de un locus genético bien determinado; o sea, cuando dos características se encuentran juntas con mayor frecuencia de la que podría esperarse solo por casualidad. Se encuentra a través de poblaciones. Un ejemplo sería la frecuencia de úlcera duodenal en individuos con grupo O sanguíneo. Se habla de unión cuando los locus de 2 genes están cerca

* Departamento de Medicina, Servicio de Endocrinología, Hosp. Rafael Angel Calderón Guardia, Escuela de Medicina de la Universidad de Costa Rica.

Trabajo presentado en el Congreso Panamericano (en Venezuela) de Endocrinología, Venezuela 1981 y Estudiantes de Medicina 1980.

Confeccionado por estudiantes de Medicina del año 1980, Universidad de Costa Rica.

uno de otro en el mismo cromosoma, de modo que tienden a acompañarse a través de la meiosis, pero por el entrecruzamiento o recombinación de alelos, estos no aparecen asociados en poblaciones pero sí dentro de una misma familia. Estudios con marcadores genéticos en asociación con ciertas enfermedades han generado un nuevo entusiasmo, con el descubrimiento de que ciertos antígenos del sistema HLA se encuentran aumentados en enfermedades de etiología desconocida, y en la DMID o juvenil. Esto último es el asunto que nos ocupa en el presente estudio.

— El sistema HLA

El sistema HLA es el principal complejo de histocompatibilidad del hombre. Los genes en la región HLA del cromosoma 6 controlan:

- 1— Aloantígenos
- 2— Algunos componentes de la cascada del complemento
- 3— Algunas respuestas inmunes.

Los antígenos HLA A, B, C, están controlados por 3 locus diferentes, cada uno con un gran número de alelos; estos antígenos se encuentran en la superficie de todas las células nucleadas, y son detectables por técnicas serológicas. Los antígenos HLA D y DR (D relacionados) posiblemente están controlados por el mismo locus, solo que se encuentran en algunas superficies celulares; los HLA D se determinan por cultivo mixto de linfocitos, y los DR por métodos serológicos especiales. El sistema HLA es muy polimórfico en cada locus, pero hay un desequilibrio de unión en cada locus (9).

— HLA y DMID

Estudios en poblaciones han demostrado sin lugar a duda, que la DMID está asociada con el sistema HLA. Según el HLA and Disease Registry, los antígenos positivamente relacionados con DMID en caucásicos son: HLA—C3, C4, B8, B15, B18, Dw3, Dw4, DRw3 y DRw4. El B15 se encuentra principalmente al norte de Europa y el B18 al sur. También se ha visto que el B7 se encuentra disminuido en DMID, de allí que se le atribuye un efecto protector; también el Dw2 (3,10,4,12,11). La mayoría de los estudios se refieren a caucásicos, y muy pocos a otros grupos étnicos. HLA—B8 y/o Dw3 parecen ser denominadores comunes de la DMID en el mundo. Sin embargo, el B8 se encuentra prácticamente ausente en poblaciones donde la prevalencia de DMID es baja como es el caso de los esquimales, japoneses y negros americanos. En estos últimos existe una fuerte asociación con Dw3. El B8 y Dw3 también aparecen con gran frecuencia en otras condiciones de presumible naturaleza autoinmune como la enfermedad de Graves, enfermedad de Addison idiopática, hepatitis crónica autoinmune, mixedema primario, tiroiditis de Hashimoto, hipoparatiroidismo idiopático, hipogonadismo hipergonadotrófico y otras; el B15 y/o B18 y/o Dw4 son relativamente específicos para DMID (9, 4). También, en japoneses, reportes iniciales indicaron que los antígenos B54 y B12 están aumentados en DMID y no en DMII, y en

este último grupo se encuentra disminuido el B5. Estos resultados son paralelos al aumento de B8 y B15 y a la disminución de B7 en caucásicos, demostrando la variabilidad étnica de esta enfermedad.

— HLA y respuestas inmunes

La respuesta inmune a insulina exógena es influenciada por el sistema HLA. HLA-B7 tiene un efecto protector contra la formación de anticuerpos anti-insulina, y está asociado positivamente a la alergia cutánea a la insulina. En algunos estudios aparecen el B15 asociado con la presencia de títulos altos de anticuerpos anti-insulina. Se encontró una positiva asociación entre el antígeno HLA—B8 y la persistencia de títulos altos de anticuerpos anti-isletos pancreáticos (4). Los hallazgos patológicos característicos de la DMID son una insulinitis linfocítica, junto con una desaparición de las células beta de los islotes de Langerhans. Además hay evidencias indirectas sobre el papel de los virus en la patogénesis de la DMID. Se han encontrado títulos altos de anticuerpos contra el virus Coxsackie B tipo 4 en pacientes con DMID, con mayor frecuencia que en la población general. Este virus, al igual que el de la encefalomiocarditis, es diabetogénico en ratones. Esto indica que el HLA-B8 es en particular un factor genético que facilitarí la acción de estos virus y la eventual reacción autoinmune (9). Como puede verse, los estudios con HLA dan mayor apoyo al concepto de heterogeneidad de la DM. Hasta el momento solo DMID se ha visto asociada a HLA. Estudios en otros tipos de DM, especialmente en poblaciones no caucásicas, confirmarían la validez de esta afirmación. La DM ha sido descrita como "la pesadilla de los genetistas" (12), ya que no han podido dar con un modo simple de herencia para ella. Esto se lo han atribuido a la heterogeneidad del síndrome clínico. Sin embargo, la demostración de una asociación significativa entre DMID y los antígenos HLA no ha revelado aun el modo de herencia de la enfermedad, y hasta ahora solo ha aportado indicaciones circunstanciales hacia factores potenciales ambientales que inician y/o facilitan el desarrollo de DMID en individuos genéticamente susceptibles (3, 10, 4, 12).

MATERIAL Y METODOS.

Se estudiaron un total de 124 pacientes de la consulta externa de los hospitales Calderón Guardia y Nacional de Niños. Los 23 diabéticos adultos fueron tomados al azar de una población de 1440 diabéticos de consulta externa, todos mayores de 30 años; los 46 diabéticos juveniles son los que están en control en el Hospital Nacional de Niños, centro de referencia de todo el país, todos menores de 30 años. Se excluyeron del estudio a pacientes con DMID secundaria a enfermedades pancreáticas, hepáticas o medicamentosas. Los antígenos se determinaron empleando la técnica de microlinfocito-toxicidad de Terasaki (13). El riesgo se calculó según la siguiente fórmula:

No. de pacientes (+) para un antígeno determinado X
No. de pacientes (-) para ese mismo antígeno.

No. de controles (+) para ese antígeno X No. de controles (-) para el mismo antígeno.

A todos los pacientes se les llenó una hoja de recolección de datos con: nombre, edad, sexo, número de expediente, raza, grupo de clasificación (control o diabéticos), antecedente familiar de DM, y resultados de la determinación de antígenos B8 y B45.

RESULTADOS

En los cuadros 1 a 4 se presenta el detalle de los 4 grupos de pacientes estudiados.

En el cuadro No. 5 está un resumen de los resultados obtenidos, y en el No. 6 los antecedentes familiares de DM en la población estudiada.

CUADRO No. 1

GRUPO DE PACIENTES DIABETICOS JUVENILES SEGUN EDAD Y PRESENCIA DE ANTIGENOS HLA B8 y/o B15

PACIENTE	EDAD (en años)	SEXO	ANTIGENOS HLA
1. H.R.D.	3	M	B8
2. M.B.J.	3	M	(-)
3. M.A.D.	3	M	(-)
4. M.M.V.	5	F	(-)
5. A.A.A.	5	M	B8
6. B.A.L.	6	M	(-)
7. A.V.G.	7	M	(-)
8. M.G.C.	7	F	(-)
9. R.M.A.	7	M	B8
10. S.U.J.	7	M	(-)
11. F.C.M.	9	M	(-)
12. H.P.M.	9	F	(-)
13. R.S.I.	11	F	B8
14. F.U.M.	11	M	(-)
15. A.M.A.	11	F	B8
16. C.E.S.	12	F	B8
17. U.M.E.	12	F	(-)
18. U.M.V.	12	M	(-)
19. Z.A.F.	12	F	(-)
20. R.S.M.	12	F	(-)
21. S.M.P.	8	F	(-)
22. S.M.J.	8	M	(-)
23. T.H.J.	13	M	B8
24. H.C.W.	13	M	(-)
25. A.C.D.	13	M	(-)
26. S.S.R.	13	M	(-)
27. V.B.H.	13	M	(-)
28. S.C.C.	13	M	(-)
29. M.T.	13	F	B8
30. C.E.A.	14	M	B8 - B15
31. S.S.R.	14	M	(-)
32. P.C.T.	14	F	(-)
33. A.A.J.	14	F	B15
34. B.B.M.	14	F	B8
35. G.V.M.	14	M	B8
36. Z.R.V.	15	F	B8
37. C.M.B.	15	M	(-)
38. C.L.A.	16	M	B8
39. P.J.N.	16	M	(-)
40. C.G.C.	16	M	(-)

41. R.D.	17	M	B8
42. R.M.E.	17	F	B8
43. D.S.R.	19	M	B8
44. C.M.E.	25	M	B8 – B15
45. C.Z.W.	34	M	(-)
46. M.C.	42	M	(-)

CUADRO No. 2

GRUPO DE PACIENTES DIABETICOS ADULTOS SEGUN EDAD, SEXO
Y PRESENCIA DE ANTIGENOS HLA – B8 y/o B15

PACIENTE	EDAD (en años)	SEXO	ANTIGENOS HLA
1. E.M.D.	30	M	(-)
2. I.D.G.530	30	F	(-)
3. J.C.A.	32	M	(-)
4. G.C.M.	37	M	(-)
5. E.V.S.	44	F	(-)
6. N.M.P.	47	F	(-)
7. C.A.	48	M	(-)
8. V.C.A.	48	F	B8
9. E.B.C.	50	M	(-)
10. Z.S.B.	52	F	(-)
11. T.A.M.	52	F	(-)
12. M.V.S.	52	M	(-)
13. J.G.C.	53	F	(-)
14. L.R.A.	56	M	(-)
15. A.V.A.	58	F	B8
16. M.R.S.	61	M	(-)
17. A.M.C.	64	M	B8
18. L.M.R.	64	F	B15
19. R.M.B.	65	F	(-)
20. M.T.	67	F	(-)
21. M.F.D.	71	M	B8
22. H.M.M.	74	F	(-)
23. T.T.	79	F	(-)

CUADRO No. 3

CARACTERISTICAS DEL GRUPO CONTROL INFANTE JUVENIL

PACIENTE	SEXO	EDAD	ANTIGENOS HLA
1. Q.C.G.	F	14	(-)
2. C.F.W.	M	18	(-)
3. M.M.V.	F	19	(-)
4. N.C.F.	F	21	B8
5. A.M.	F	22	(-)
6. G.V.E.	F	22	(-)
7. O.G.O.	M	22	(-)

8. M.C.G.	F	22	(-)
9. C.C.F.	F	22	B8
10. Z.R.L.	F	22	(-)
11. B.C.	F	23	(-)
12. A.E.	F	23	(-)
13. G.A.B.	M	23	(-)
14. J.R.F.	M	23	(-)
15. A.M.J.	M	23	(-)
16. S.M.A.	F	23	(-)
17. R.M.J.	M	23	(-)
18. A.V.M.	M	23	(-)
19. M.C.M.	M	23	(-)
20. G.R.	M	24	(-)
21. M.S.G.	F	24	(-)
22. J.A.E.	M	24	(-)
23. F.H.	M	24	(-)
24. C.J.	M	24	(-)
25. J.A.	M	25	B8
26. D.D.M.	M	25	(-)
27. G.D.	M	25	(-)
28. Q.M.Z.	F	27	(-)
29. C.D.D.	F	27	(-)
30. V.O.M.	M	28	B8
31. A.U.R.	M	28	(-)

CUADRO No. 4

CARACTERÍSTICAS DEL GRUPO CONTROL ADULTO

PACIENTE	SEXO	EDAD	ANTIGENO HLA
1. P.H.	M	34	(-)
2. C.B.V.	F	35	B8
3. T.B.O.	F	35	(-)
4. R.A.M.	M	36	(-)
5. J.T.C.	F	36	(-)
6. A.U.M.	F	38	B8
7. M.S.R.	F	43	B8
8. N.L.	F	43	B8
9. M.A.H.	M	44	B8
10. P.Z.	M	44	B8, B15
11. M.B.T.	F	47	(-)
12. R.P.J.	M	50	B8
13. U.R.M.	F	51	(-)
14. M.R.H.	F	53	B8
15. O.L.	M	53	(-)
16. S.C.H.	F	53	(-)
17. C.S.	F	54	(-)
18. S.J.B.	M	54	(-)
19. S.P.D.	F	56	(-)
20. M.C.E.	M	57	(B8)
21. V.B.A.	F	58	(-)
22. V.M.C.	M	60	(-)
23. V.N.M.	F	72	B15

CUADRO No. 5

FRECUCENCIA DE ANTIGENOS HLA, B8 Y B15 EN DIABETICOS JUVENILES Y ADULTOS RIESGO RELATIVO

POBLACION	NUMERO	ANTIGENOS B8	RIESGO B15	RELATIVO B8	RELATIVO B15
DIABETES MELLITUS JUVENIL	46	18 (39.1%)	3 (6.5%)	4.5	—
DIABETES MELLITUS ADULTO	23	4 (17.39%)	1 (4.3%)	0.63	0.52
GRUPO CONTROL JUVENIL	32	4 (12.5%)	—	—	—
GRUPO CONTROL ADULTO	23	8 (34.8%)	3 (8.7%)	—	—
TOTAL	124				

CUADRO No. 6

ANTECEDENTES FAMILIARES DE DIABETES MELLITUS

	TOTAL	%
GRUPO DIABETICO JUVENIL	29	63%
GRUPO DIABETICO ADULTO	16	69.5
GRUPO CONTROL JUVENIL	16	50
GRUPO CONTROL ADULTO	7	30.4

DISCUSION.

Desde 1970 se señala que la DMID es el resultado de la interacción de factores genéticos y ambientales,

tales como los virus coxsackie B tipo 4 y el de la encefalomiocarditis entre otros. En Costa Rica no existen reportes sobre el papel etiopatogénico de dichos virus en la

población diabética juvenil. Diferentes autores han establecido sin lugar a duda la relación entre DMID y la presencia de HLA-B8 y B15. El estudio de los HLA ha permitido dividir a la DM en 2 grupos diferentes de individuos dependientes e independientes de insulina. La DM dependiente de insulina es infrecuente en poblaciones donde la frecuencia de HLA es baja. El interés de realizar este trabajo fue conocer el comportamiento de los HLA B8 y B15 en una población, que sin ser representativa de la población nacional, si lo es de la población hospitalaria. En nuestro trabajo encontramos una frecuencia para el Antígeno B8 de 39.1% en el grupo de diabéticos insulino-dependientes juveniles, con un riesgo relativo de 4.5. Para el antígeno B15 se encontró una frecuencia del 6.5%; el riesgo relativo no se pudo calcular. En la población diabética insulino-dependiente adulta se encontró un alto porcentaje de B8 positivo (17.4%). Este hecho está de acuerdo con la clasificación actual de la DM, dependiente e independiente de insulina. En el primer caso, la población genéticamente susceptible portadora de los antígenos B8 y B15, desarrolló diabetes cuando concurren factores etiopatogénicos ambientales como los virus. La determinación positiva de antígenos B8 y B15 indicaría la susceptibilidad de padecer DM insulino-dependiente. Ahora bien, la diferencia porcentual de antígenos B8 y B15 positivos entre DMID juvenil y adulta podría explicarse porque, muchos de los diabéticos pudieron haber comenzado como insulino-independientes y luego cambiaron a insulino-dependientes por factores concurrentes no conocidos.

En nuestro trabajo encontramos que existe relación entre HLA-B15 y DMID juvenil, puesto que para el grupo diabético la frecuencia es de 6.5% contra 0% del grupo control. El resultado encontrado para este antígeno es distinto en el trabajo de Arguedas y Falcón (1), ya que dichos autores no encontraron correlación entre DM juvenil y HLA-B15. Nuestras cifras de positividad para B8 se correlacionan con las reportadas en Dinamarca e Inglaterra para población caucásica, e incluso son más altas que las reportadas por Solow y colaboradores (11); este autor reportó 29% en diabéticos juveniles, y en nuestro estudio se encontró 39.1% para el B8. El hecho de encontrar B8 positivo en 4 de 32 personas jóvenes no diabéticos (12.5%) y en 8 de 23 adultos sanos (34.8%) indica que la población no diabética es también portadora de este antígeno. El riesgo relativo de padecer DM juvenil en nuestra población (4.5) es más del doble del reportado por Cudworth y Woodrow (2). Nerup en 1974 ya había encontrado un aumento de B8 en DM insulino-dependiente sea cual fuera la edad de inicio de la enfermedad; con un riesgo relativo de 2.4 para B8 y 2.5 para B15. En nuestra población diabética insulino-dependiente juvenil el riesgo relativo para B8 es de 4.5. El riesgo relativo para B15 en nuestro estudio no se pudo calcular para los diabéticos juveniles; sin embargo la frecuencia de este antígeno en nuestra población diabética juvenil (6.5) es mucho más baja que la encontrada en poblaciones caucásicas localizadas en el norte de Europa, lo cual indica una diferencia racial importante

en la frecuencia de estos antígenos; vale decir que la población costarricense tiende a asemejarse a la población del sur de Europa. Al comparar la prevalencia del HLA B8 del grupo diabético juvenil (39.1%) con la prevalencia del mismo antígeno en el grupo control juvenil (12.5) se puede concluir que las diferencias son notables; por otra parte al aplicarle a estos datos los análisis bioestadísticos pertinentes (X^2 —sensibilidad y especificidad) se evidencia que las diferencias son altamente significativas (ver en el apéndice los cálculos respectivos). Las pruebas de sensibilidad y especificidad revelan que el test es de utilidad diagnóstica ya que la suma del resultado de estas dos pruebas es de 1.27.

Al analizar los datos —concernientes a ambos grupos diabéticos en lo que respecta a riesgo relativo para B8, encontramos que para los diabéticos juveniles fue de 4.5 y para los adultos de 0.63. Esto indica que los diabéticos juveniles tienen una mayor susceptibilidad genética, lo que ya ha sido señalado por Nerup y colaboradores (9) al decir: "Una o más respuestas inmunológicas asociadas con HLA B8 y B15 pueden ser responsables de una respuesta alterada de los linfocitos T. El huésped genéticamente determinado fallaría en la respuesta inmunológica ante la infección viral que destruiría las células beta o desencadenaría una reacción autoinmune contra el órgano infectado". La mayor parte de los autores concuerdan en que por lo menos hay dos genes que aumentan el riesgo de padecer DMID en relación con los antígenos B8 y B15 (4, 3, 10, 4, 12, 5). Cuando se presentan juntos aumenta la susceptibilidad. Sin embargo, en estudios realizados en otras poblaciones caucásicas se han encontrado otros antígenos, como el Dw3 y el Dw4, positivos con más frecuencia que los B8 y B15. Con respecto a los antecedentes de Diabetes Mellitus, en la Literatura se reporta que la herencia de esta enfermedad es mayor para el grupo juvenil (60-70%) en relación al grupo adulto (40-50%); sin embargo en nuestro trabajo los resultados son diferentes ya que los porcentajes son muy parecidos (63% para el grupo diabético juvenil y 69.5% para el grupo diabético adulto. La aplicación de X^2 revela que las diferencias no son significativas (ver cálculos en el apéndice). Siendo el sistema HLA factor importante de una serie de padecimientos organoespecíficos autoinmunes, es necesario que en el futuro, la población costarricense sea tipificada por nuestros genetistas.

RESUMEN Y CONCLUSIONES.

1— Se encuentra una asociación positiva entre el antígeno B8 y la DMID juvenil; esta es similar a la encontrada en poblaciones europeas.

2— Se encuentra una asociación positiva entre el antígeno B15 y la DMID juvenil, siendo la frecuencia de este antígeno menor que la encontrada en poblaciones al norte de Europa.

RECOMENDACIONES:

1— Tipificar los HLA en la población costarricense. 2— Tipificar en la población costarricense antígenos distintos a B8 y B15 tales como Dw3, Dw4 y B18 entre otros en relación con la DMID. 3— Con base a la tipificación poblacional, iniciar estudios que determinan la asociación entre HLA y enfermedades organoespecíficas autoinmunes. 4— Delucidar en el futuro la relación que existe entre HLA, DMID y un modo de herencia específico. 5— Evaluar en estudios poblacionales si la determinación de HLA es un mejor criterio para diferenciar la DMID de la DMII. 6— Realizar estudios de HLA y DMID en familias de diabéticos.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.— Arguedas, Carlos; Falcón Enrique. Frecuencia de los antígenos de histocompatibilidad HLA—B8 y HLA—B15 en una población de diabéticos juveniles costarricenses. *Acta Médica Costarricense* 22 (3), 251-257. 1978.
- 2.— Cudworth, A. Woodrow, J. Evidence for HLA linked genes in "juvenile" Diabetes Mellitus. *British Medical Journal* 3:133. 1975.
- 3.— Christy, M et al. Studies of the HLA system and insulin dependent diabetes care 2: 3, 209-214. 1979.
- 4.— Kaldany, Antoine. Autoantibodies to islet cells in Diabetes Mellitus. *Diabetes* 28: 102-105, Feb. 1979.
- 5.— Kirk, R.L. Et al Genetic susceptibility to Diabetes Mellitus: The distribution of propärdin factor B (Bf) and Glyoxalase (GLO) Phenotypes. *Diabetes* 28: 949-951, October 1979.
- 6.— Mata, L et al. La Salud en Costa Rica en 1978: Ciencia y Tecnología en un marco de prioridades. *Acta Médica Costarricense* 22 (2), 209-215, 1979.
- 7.— Mora, E; Solano L; Salazar, R. Frecuencia de Diabetes Mellitus en Costa Rica. *Acta Médica Costarricense* 12 (3) 207-220; 1969.
- 8.— Mora Morales, Eric. Diabetes Mellitus in Costa Rica. *Bulletin published by the International Diabetes Federation* 25 (1) 24-25, January 1980.
- 9.— Nerup, J; Cathelineau, Cr; Seignalet, J; Thomson; M HLA and endocrine Diseases. In: *HLA and disease*. Dausser, J. and Svegaard; Eds. Copenhagen, Munksgaard, 1977, p. 149-167.
- 10.— Rotter, I.I. Genetic Markers o Diabetes. *Diabetes Care* 2: 3: 215. 1979.
- 11.— Solow, H. et al. Juvenile Onset Diabetes HLA-A-B-C and DR Alloantigens. *Diabetes* 28:1-4, January 1979.
- 12.— Suárez, Brian et al. Is juvenile diabetes determined by a single gene closely linked to HLA? ; *Diabetes* 28: 527-532, June 1979.
- 13.— Terasaki, P. et al. Microdotlet lymphocyte cytotoxicity test. In: *Manual of tissue typing techniques*. Edited by J.G. Ray, D.B. Ylare, P.D. Pedersen, D.I. Mullally.