

Estudios inmunológicos en pacientes con insuficiencia renal crónica.

Luis Fernando García-Moreno, María Eugenia Medina, Luz Helena Posada y Carmen Beatriz Zuluaga*

EXTRACTO

En 24 pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) mantenidos mediante hemodiálisis periódicas se estudiaron algunos parámetros inmunológicos como valores absolutos y porcentuales de linfocitos T, B y nulos circulantes, inmunoglobulinas G, M y A, complemento sérico (CH_{50}). También en 78 enfermos con IRC se estudió la respuesta cutánea al dinitroclorobenceno (DNCB). En la inmunofluorescencia directa se encontraron niveles absolutos y porcentuales significativamente disminuidos de linfocitos B con inmunoglobulinas de superficie (sIg $\pm$). Casi todos los sujetos presentaron anergia a la sensibilización con DNCB.

INTRODUCCION

Los pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC), sometidos o no a procedimientos dialíticos, presentan una gran variedad de anormalidades en su respuesta inmune¹. Desafortunadamente los informes de las diversas alteraciones no ofrecen consistencia sobre todo con respecto a los valores porcentuales o absolutos de los linfocitos T y B en la sangre periférica²⁻⁵, o la respuesta *in vitro* de los linfocitos a estímulos antigénicos o mitogénicos⁶⁻¹⁰ o los niveles de inmunoglobulinas séricas^{3,7,11,12}. Un hallazgo constante en todas las publicaciones es el alto porcentaje de anergias en sujetos urémicos^{3,7,13-17}.

El estudio de la respuesta inmune en los pacientes con IRC es importante debido a la alta incidencia de infecciones en ellos¹ y

además, porque se conoce la correlación que existe entre la supervivencia de quienes reciben injertos renales y el estado inmunológico pre-transplante^{13,17}.

El presente trabajo describe los hallazgos inmunológicos en pacientes con IRC (candidatos a transplante renal) comparados con un grupo control de individuos sanos.

MATERIALES Y METODOS

Sujetos estudiados: Las 24 personas que se estudiaron se encontraban en el programa de hemodiálisis crónica, 3 veces por semana, en la Unidad Renal del Departamento de Medicina Interna de la Facultad de Medicina (Universidad de Antioquia) y el Hospital Universitario San Vicente de Paúl, Medellín. El tiempo de permanencia en diálisis varió de 3 a 34 meses. La edad oscilaba entre 19 y 42 años. Ninguno de los pacientes estudiados presentaba anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta y no se suministraba terapia inmunosupresora alguna en el momento del estudio. Además de la hemodiálisis el tratamiento consistía en las siguientes drogas, según el caso, sulfato ferroso, valium, pepsamar, aldomet y gentamicina.

Como controles se utilizaron 20 sujetos elegidos entre el personal médico y paramédico, clínicamente sanos, con edades entre los 21 y los 38 años.

Obtención de suero y linfocitos: Las muestras de sangre venosa se tomaron en ayunas. Una parte de la muestra se colocó en un tubo seco y luego se separó el suero que se conservó a $-20^{\circ}C$ hasta su estudio. A otra parte de la muestra se adicionaron 20 U/ml de heparina (F. Hoffman-La Roche, Suiza). El recuento de leucocitos se hizo en un hemocitómetro y para la fórmula diferencial se usaron extendidos coloreados con Wright.

Para separar los linfocitos, la sangre heparinizada se colocó con 200 mg de hierro carbonilo (GAF Corporation, New York) por 30 min a $37^{\circ}C$ con agitación manual cada 5 min y posterior-

* Centro de Investigaciones Médicas, Sección de Inmunología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

mente se separaron los linfocitos por medio de gradientes de densidad de ficoll-hypaque¹⁸. La capa de mononucleares se lavó 3 veces y luego se resuspendió a una concentración de 2×10^6 cels/ml en medio RPMI-1640 (Difco, Detroit) adicionado con 30 mM/l de hepes (Calbiochem, La Jolla), 10% de suero bovino fetal inactivado y antibióticos. Según las tinciones de Wright, los linfocitos correspondieron a 95%-98% de las células. La viabilidad fue siempre mayor de 95% según la exclusión de azul de tripano.

Formación de rosetas E: Las células formadoras de rosetas E totales y activas se estudiaron de acuerdo con una técnica previamente descrita^{19,20}, mezclando los linfocitos con glóbulos rojos de carnero al 0.5% v/v. Después de centrifugar la mezcla a 125 g por 5 min se contaron las rosetas E activas mientras que las rosetas E totales se incubaron 1 h a 4°C. Los linfocitos que unían 3 ó más eritrocitos de carnero fueron considerados como positivos.

Formación de rosetas de eritrocitos-anticuerpos-complemento (EAC)²¹: A fin de descubrir los linfocitos con receptores para C3b, se utilizaron eritrocitos de carnero tripsinizados y luego sensibilizados con IgM anti-glóbulos rojos de carnero (Cappel Lab.) a una concentración subaglutinante y suero de ratón previamente absorbido con eritrocitos de carnero (como fuente de complemento no hemolítico). La mezcla de linfocitos y glóbulos sensibilizados EAC se incubó por 5 min a 37°C y luego se centrifugó a 225 g por 5 min. El porcentaje de rosetas EAC se determinó en igual forma que para las rosetas E.

Células con inmunoglobulinas de superficie (sIg +): Los linfocitos se incubaron con suero de cabra anti-inmunoglobulinas humanas anti-IgG-IgA-IgM (Behringwerke AG, Marburg) y el porcentaje de células fluorescentes se examinó con un microscopio Ortholux (Leitz) con filtros BG-12 y 530 nm²².

Células nulas: Para cada suero estudiado se calculó el número de células sin marcadores de membrana sustrayendo de 100 el porcentaje de células formadoras de rosetas E totales más el valor mayor de rosetas EAC o de sIg +.

Inmunoglobulinas séricas: La inmunoglobulina G (IgG), A (IgA) y M (IgM) se midieron en el suero utilizando la técnica de la inmunodifusión radial por el método de Mancini y col.²³ Los antisueros y los sueros con concentraciones conocidas se obtuvieron comercialmente (Behringwerke, Marburg).

Complemento sérico: El complemento hemolítico total (CH₅₀) se determinó por la técnica de Kabat y Mayer²⁴, con las siguientes modificaciones: se basa en la medición de la hemoglobina liberada por los eritrocitos después de una reacción de un anticuerpo específico contra determinantes antigénicos de la membrana del eritrocito más el complemento.

1. Glóbulos rojos de carnero al 5% en solución salina.
2. Solución de hemolisina (según el título) en solución salina boratada.

Mezclar estas soluciones a partes iguales y dejar en reposo 10 min, para que ocurra la reacción antígeno-anticuerpo. El suero

se diluye 1:20 en solución salina boratada; a 0.3 ml de dilución del suero se agregan 0.2 ml de sistema hemolítico. Se incubó a 37°C por 30 min luego se agrega a cada tubo 0.5 ml de solución salina fría. Se centrifuga y se lee la hemólisis frente a una escala hemolítica que se prepara así:

Una solución A compuesta por hematíes de carnero al 5% en solución salina y una solución B compuesta por glóbulos rojos de carnero al 5% a los que se les agrega agua destilada. Se congela y se agrega solución salina hipertónica 1.71. Luego se hacen mezclas de estas dos soluciones empezando por 1 ml de solución A y 0 ml de solución B (que es el tubo de hemólisis 0%). Las otras soluciones se preparan aumentando la solución B y disminuyendo la A hasta llegar al tubo que da 100% hemólisis.

En papel semilogarítmico, se aplica la ecuación de von Krough para buscar la relación entre el porcentaje de hemólisis y la concentración de complemento. La lectura se da en unidades por mililitro de suero.

Sensibilización con dinitroclorobenceno (DNCB): Se sensibilizaron 78 pacientes urémicos con IRC con 2 mg de DNCB, según el trabajo de Spitler²⁵. Después de 3 semanas se les aplicó en la cara anterior del antebrazo como dosis de reto, 3, 10, 30 y 50 µg de antígeno y la reacción cutánea se leyó a los 4 días.

Análisis estadístico: Los resultados se expresan como la media $\pm$ límites de confianza de 95%. Las comparaciones entre los pacientes y los grupos controles se hicieron por medio de la prueba de Student.

RESULTADOS

Poblaciones de linfocitos: No se encontraron diferencias significativas entre el grupo de pacientes y los controles con respecto al número de leucocitos o de linfocitos por mm³ ni al porcentaje de linfocitos (Cuadro 1). Los linfocitos T puestos de presente por la formación de rosetas E totales o la subpoblación formadora de rosetas E activas presentaron valores similares en ambos grupos.

Los linfocitos B descubiertos por las rosetas EAC no mostraron diferencias significativas en el grupo de pacientes con IRC al compararlos con los controles sanos. En cambio se observó una disminución significativa en las cifras absolutas y relativas de las células con inmunoglobulinas de membrana en los pacientes que tenían 154 cels/mm³ (7%), contra 366 cels/mm³ (14.8%) en el grupo control. Los valores de los linfocitos nulos fueron semejantes en los enfermos y en los controles.

Inmunoglobulinas séricas: Los niveles de IgG estaban disminuidos en los pacientes con IRC mientras que los de IgA e IgM eran más altos que en el grupo control (Cuadro 2); sin embargo, las diferencias no fueron significativas.

Complemento sérico total: El complemento medido por el CH₅₀ no varió significativamente en los 2 grupos. Los pacientes presentaron 184.2 U/ml mientras en los controles se encontraron 198.9 U/ml.

Cuadro 1. Poblaciones de Linfocitos en Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica (IRC).

	Pacientes (24)			Controles (20)		
	No.	μ l	%	No.	μ l	%
Leucocitos	5,	579	---	6,	143	---
	$\pm$	719		$\pm$	921	
Linfocitos	1,	980	36.5	2,	326	38.6
	$\pm$	342	± 4.9	$\pm$	361	± 50
Rosetas E	1,	209	61.3	1,	479	62.9
totales	$\pm$	165	± 32	$\pm$	272	± 4.1
Rosetas E		789	39.8		919	41.1
activas	$\pm$	165	± 5.2	$\pm$	227	± 6.8
sIg+		154**	7.0***		366**	14.8***
	$\pm$	60	± 2.2	$\pm$	106	± 2.7
Rosetas		387	19.8		492	20.6
EAC	$\pm$	90	± 4.0	$\pm$	146	± 3.9
Nulos		382	18.9		437	19.7
	$\pm$	155	± 6.0	$\pm$	152	± 5.7

* Media $\pm$ límites de confianza de 95%

** $p \leq 0.001$

*** $p \leq 0.00005$

Cuadro 2. Inmunoglobulinas Séricas en Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica (IRC).

Sujetos	IgG mg/100 ml	IgA mg/100 ml	IgM mg/100 ml
Pacientes	1,464*	261	208
IRC (35)	± 249	± 43	± 57
Controles	1,540	236	150
(53)	± 143	± 22	± 25

* Media $\pm$ límites de confianza de 95%

Respuesta al DNCB: La capacidad de responder a un antígeno nuevo se probó por medio del DNCB en 78 pacientes urémicos. Es notable que con la dosis de reto más baja (3 μ g) sólo 7 (9.0%) pacientes fueron positivos (Cuadro 3). Aunque el número de reactores aumentó a medida que subía la dosis de reto, con una dosis tan elevada como 50 μ g únicamente 48 de los 78 enfermos (62.0%) respondieron con reacciones cutáneas positivas.

DISCUSION

El estudio del estado inmunológico de los pacientes en insuficiencia renal crónica es importante no solo por la alta frecuencia de infecciones que ellos presentan, sino también porque algunas de las anormalidades que se han descubierto se

Cuadro 3. Sensibilidad Cutánea al DNCB en 78 Pacientes con Insuficiencia Renal Crónica (IRC).

	DOSIS DE RETO			
Respuesta	3 μ g	10 μ g	30 μ g	50 μ g
Negativo				
— / +	71 * (91)**	53 (68)	44 (56)	30 (38)
Positivo				
++ / +++	7 (9)	25 (32)	34 (44)	48 (62)

* Número de pacientes

** Porcentaje

relacionan con el pronóstico de los aloinjertos renales. Sin embargo, los diferentes trabajos publicados hasta el momento presentan datos muy variables¹. Varios autores^{1,3,9,15} han encontrado linfopenia pero parece que el tratamiento con hemodiálisis induce un aumento a valores cercanos a los normales⁴. Aunque en los pacientes de este estudio no fue posible demostrar alteraciones en los valores absolutos o relativos de linfocitos, hay que aclarar que todos estos enfermos se encontraban en tratamiento de hemodiálisis.

Al igual que los linfocitos totales, los linfocitos T se han visto disminuidos tanto en número como en porcentaje^{2,5}, mientras que otros autores han descrito valores normales independientemente del tratamiento dialítico¹⁵.

Los hallazgos del presente trabajo se ubican dentro de esta última categoría pues no se pudo evidenciar diferencias significativas entre el grupo normal y los pacientes con IRC bien fuera para las células T totales descubiertas por las rosetas E-totales o la subpoblación formadora de rosetas E-activas, que descubren linfocitos con una mayor afinidad por los eritrocitos de carnero y que de acuerdo con múltiples informes representan linfocitos T con un mayor grado de activación inmunológica²⁶.

Los linfocitos B se estudiaron por 2 métodos diferentes: las rosetas EAC que revelan células con receptores para la fracción C3b²¹ y por medio de la inmunofluorescencia directa para descubrir células con inmunoglobulinas de superficie (sIg +)²².

Las rosetas EAC presentaron valores normales, lo cual confirma comunicaciones previas⁷ mientras que los linfocitos con Igs de membrana se encontraron disminuidos tanto en términos relativos como en los valores absolutos, lo cual a su vez está de acuerdo con los resultados de otros investigadores^{9,27,28}. Desafortunadamente ni en el estudio actual ni en los otros trabajos se utilizó el fragmento F (ab)₂ conjugado anti-inmunoglobulina como reactivo para manifestar estas células, lo cual descartaría en forma directa la absorción pasiva del antisuero a los receptores Fc existentes en la membrana de los linfocitos B, de los linfocitos nulos y de los posibles

monocitos residuales²⁹; sin embargo el antisero utilizado en el presente trabajo se obtuvo de cabra, siendo conocido que la IgG de esta especie tiene muy baja afinidad por el receptor Fc humano^{29,30}. Si se toman estos datos en conjunto, es posible sugerir que en los pacientes con IRC hay una deficiencia de células circulantes con inmunoglobulina en su membrana, posiblemente linfocitos B.

Los informes sobre los niveles de inmunoglobulinas séricas en los pacientes con IRC ofrecen variaciones considerables. Por ejemplo, los niños en diálisis tienen niveles bajos de IgG con IgM alta cuando hay proteinuria asociada¹¹. En los pacientes que van a recibir transplantes no es raro encontrar IgM normal con niveles disminuidos de IgG e IgA, cifras que regresan a valores normales después del injerto¹². Los resultados en este tipo de trabajos son muy variables como lo demuestran los informes de un mismo grupo de estudio. En efecto, Casciani *et al.*³ encontraron niveles normales de IgA e IgM con IgG alta en una tercera parte de pacientes. Luego, en otro artículo los mismos investigadores⁷ comunican niveles ligeramente disminuidos de las 3 inmunoglobulinas. En el presente trabajo se encontraron niveles normales de IgG con una elevación no significativa de IgA e IgM.

Con respecto al complemento hemolítico total en este estudio, las cifras fueron normales pero como en otros parámetros también hay informes de valores disminuidos⁷.

Quizás el único hallazgo que no tiene variaciones se refiere a la disminución en las respuestas de la inmunidad celular medidas bien sea por la linfoblastotransformación *in vitro*^{6,10} o por las reacciones cutáneas *in vivo*^{13,17}. En el primer caso se ha descrito la presencia de factores séricos que inhiben la respuesta a mitógenos o antígenos específicos y que se han caracterizado como moléculas de peso molecular intermedio^{31,32}. Este efecto también se ha interpretado como secundario a las alteraciones de electrolitos existentes en los sueros urémicos³³, o como una falla de factores tímicos³⁴ y aun como una consecuencia de los anticuerpos linfocitotóxicos que frecuentemente se observan en este tipo de enfermos³⁵, pero asimismo hay que insistir en la posible existencia de células supresoras³⁶.

La anergia cutánea que se demostró en 38% de los pacientes pues no fueron capaces de responder a una dosis de reto de 50 µg de DNCB que normalmente induciría respuestas en más de 90% de los individuos normales, se puede explicar por las mismas razones que las respuestas *in vitro* disminuidas.

Se ha encontrado que la anergia cutánea al DNCB se correlaciona con un significativo mejor pronóstico de los injertos^{16,17} lo cual hace que este estudio tenga gran utilidad práctica.

Como la IRC es el producto final de una gran variedad de procesos patológicos es natural que las anormalidades inmunológicas que se descubren correspondan a 2 tipos diferentes: las primeras secundarias a las múltiples alteraciones metabólicas que se presentan por no existir una función renal adecuada y las segundas debidas a los procesos inmunológicos inherentes a las entidades de base que llevan a la IRC como

puede ser el caso de la glomerulonefritis o el LES. Esto, lo mismo que la falta de uniformidad en las técnicas empleadas hace que los hallazgos sean confusos y hasta contradictorios.

Por tanto, es importante realizar estudios nuevos en los cuales se discrimine con mayor claridad el estado metabólico de los pacientes y la etiología de la IRC con el fin de obtener un cuadro más comprensible de estos problemas.

SUMMARY

Patients with chronic renal failure (CRF) under maintenance hemodialysis were compared with a group of healthy controls with respect to the following immunological parameters: T, B and null lymphocytes values, serum IgG, IgM and IgA, total hemolytic complement (CH₅₀) and skin reactivity to dinitrochlorobenzene (DNCB) sensitization. Patients with CRF showed decreased numbers and percentages of B lymphocytes (surface immunoglobulin positive cells, sIg+) as measured by direct immunofluorescence. Most of the patients exhibited cutaneous anergy to DNCB.

AGRADECIMIENTOS

A todo el personal de la Unidad Renal del Hospital Universitario San Vicente de Paúl, por su valiosa colaboración.

REFERENCIAS

- Goldblum, S.S. y Reed, W.P.: Host defenses and immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. *Ann Intern Med* 93: 597-613, 1980.
- Bansal, V.K. y Robinson, J.A.: T lymphocytes in chronic renal failure. *J. Med* 10: 457-466, 1979.
- Casciani, C.V., De Simone, C., Bonini, S., Galluci, M.T., Matteucci, G., Valesini, G., Meli, D. y Masala, C.: Immunological aspects of chronic uremia. *Kidney Int* 13: S-49 S-54, 1978.
- Hoy, W.E., Cestero, R.V.M. y Freeman, R.B.: Deficiency of T and B lymphocytes in uremic subjects and partial improvement with maintenance hemodialysis. *Nephron* 20: 182-188, 1978.
- Sengar, D.P.S., Rashid, A. y Harris, J.E.: Active T and EA-rosette forming cells in human cadaver renal allograft recipients. *Clin Exp Immunol* 35: 236-241, 1979.
- Kasakura, S. y Lowenstein, L.: The effect of uremic blood on mixed leukocyte reactions and on cultures of leukocytes with phytohemagglutinin. *Transplantation* 5: 283-289, 1967.
- Casciani, C.V., De Simone, C., Adorno, D., Meli, D., Cicogna, V.A., Piazza, A. y Masala, C.: Hemodialysis patients waiting for a kidney transplant: immunological investigation. *Transplant Proc* 11: 115-118, 1979.
- Nakhla, L.S. y Coggini, N.J.: Lymphocyte transformation in chronic renal failure. *Immunology* 24: 229-235, 1973.
- Daniels, J.C., Sakai, H., Cobb, E.K., Remmers, A.R., Sarles, H.E., Fish, J.C., Leding, W.C. y Ritzman, S.E.: Altered nucleic acid synthesis patterns in lymphocytes from patients with chronic uremia. *Am J Med Sci* 259: 214-227, 1970.
- Newberry, W.M. y Sanford, J.P.: Defective cellular immunity in renal failure: depression of reactivity of lymphocytes to phytohemagglutinin by renal failure serum. *J Clin Invest* 50: 1262-1271, 1971.
- Beale, M.G., Hoffsten, P.M. y Robson, A.M.: Immune responses in pediatric patients on dialysis. *J Pediatr* 93: 310-311, 1978.
- Zühlke, V., Deodhar, S.D., Nakamoto, S. y Kolff, W.J.: Serum immunoglobulin levels following human renal allotransplantation: A preliminary report. *Transplantation* 5: 135-141, 1967.
- Wilson, W.E.C., Kirkpatrick, C. y Talmage, D.W.: Suppression of immunologic responsiveness in uremia. *Ann Intern Med* 62: 1-14, 1965.

14. Byron, P.R., Mallick, N.P. y Taylor, G.: Immune potential in human uremia. I. Relationship of glomerular filtration rate to depression of immune potential. **J. Clin Pathol** 29: 765-769, 1976.
15. Selroos, O., Pasternack, A. y Virolainen, M.: Skin test sensitivity and antigen-induced lymphocyte transformation in uremia. **Clin Exp Immunol** 14: 365-370, 1973.
16. Rolley, R.T., Sterioff, S., Parks, L.C. y Williams, G.M.: Delayed hypersensitivity and human renal transplantation. **Transplant Proc** 8: 81-83, 1978.
17. Maxwell, J.G., Lawrence, P.F. y Warden, G.D.: Dinitrochlorobenzene skin test reactivity a predictor of outcome in transplantation of juvenile onset diabetics. **Transplantation** 32: 381-391, 1981.
18. Boyüm, A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. **Scand J Clin Lab Invest** 21 (suppl. 97): 77-89, 1968.
19. Aristizábal, L. y García-Moreno, L.F.: The effect of concanavalin A on the formation of different types of E-rosettes. **J. Reticuloendothel Soc** 29: 117-125, 1981.
20. Paris, S.C. y García-Moreno, L.F.: Formation of total, active and stable E-rosettes by human lymphocytes stimulated with Con A derivatives. **J Clin Lab Immunol** (en publicación).
21. Ehlenberber, A.G. y Nussenzweig, V.: Identification of cells with complement receptors. 113-121 pp. En: Bloom, B.R., David, J.R.: **In vitro methods in cell-mediated and tumor immunity**. Academic Press, N.Y., 1976.
22. Waller, C.A. y MacLennan, I.C.M.: Analysis of lymphocytes in blood and tissues. 170-195 pp. En: Thompson, R.A.: **Techniques in Clinical Immunology**. Blackwell Sci Pub Oxford, 1977.
23. Mancini, G., Carbonara, A.O. y Heremans, J.F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. **Immunochemistry** 2: 235-254, 1965.
24. Kabat, E.A. y Mayer, M.M.: **Experimental immunochemistry** 2nd Ed. Charles C. Thomas, Springfield, 1961.
25. Spittler, L.C.: Delayed hypersensitivity skin testing. En: Rose, N.R. y Friedman, H.: **Manual of clinical immunology**. A.S.M. Washington, D.C., 1976.
26. Wybran, J. y Fudenberg, H.H.: Thymus-derived rosette-forming cells in various human disease status: cancer, lymphoma, bacterial and viral infections. **J Clin Invest** 52: 1026-1032, 1973.
27. Quadracci, L.J., Ringden, O. y Krzymanski, M.: The effect of uremia and transplantation in lymphocyte subpopulations. **Kidney Int** 10: A9-184, 1976.
28. Reddy, M.M., Goh, K.O. y Cestero, R.V.M.: T and B lymphocytes in patients with chronic renal disease on hemodialysis. **Experientia** 31: 980-981, 1975.
29. Arbeit, R.D., Henkart, P.A. y Dickler, H.B.: Lymphocyte binding of heat aggregated and antigen-complexed immunoglobulin. 143-154 pp. En: Bloom, B.R. y David, J.R.: **In vitro methods in cell-mediated and tumor immunity**. Academic Press, NY 1976.
30. Lobo, P.I. y Horwitz, D.A.: An appraisal of Fc receptors on human peripheral blood B and L lymphocytes. **J Immunol** 117: 939-943, 1976.
31. Miyakoshi, H., Aoki, T. y Hirasawa, Y.: Effects of serum and plasma from hemodialysis patients on the lymphoproliferative response. **Clin Nephrol** 12: 263-268, 1979.
32. Klinger, M., Kuczera, J. y Kruzel, E.: The influence of uremic sera on the blastic transformation of lymphocytes of healthy subjects stimulated with non-specific mitogens (PHA, Con A, PWM). **Arch Immunol Ther Exp** 20: 73-82, 1980.
33. Harwick, H.J.: Kalmanson, G.M. y Guze, L.B.: Effect of renal physicochemical milieu on stimulation of humans lymphocytes by phytohemagglutinin. **Nephron** 23: 293-296, 1978.
34. Harris, J., Sengar, D., Rashid, A., Hyslop, D., Green, L. y Goldstein, A.L.: Immuno-deficiency in chronic uremia: preliminary evidence for thymosin deficiency. **Transplantation** 20: 176-178, 1975.
35. Patel, R., Merrill, J.P. y Briggs, W.A.: Analysis of results of kidney transplantation: comparison in recipients with and without preformed anti-leukocyte antibodies. **N Engl J Med** 285: 274-276, 1971.
36. Guillou, P.J., Woodhouse, L.F., Davison, A.M. y Giles, G.R.: Suppressor cell activity of peripheral mononuclear cells from patients undergoing chronic haemodialysis. **Biomedicina** 32: 11-17, 1980.