

CAPÍTULO V

Genética de la Histocompatibilidad

5.1 Fundamentos genéticos de la compatibilidad tisular

Cuando se intenta transplantar un fragmento de tejido u órgano (**injerto**) de un individuo a otro podemos constatar que, en general, este injerto es rechazado. La aceptación definitiva del injerto por parte del organismo receptor es un fenómeno raro, que se produce sólo en situaciones particulares. Uno de los factores que determina este rechazo o aceptación es el grado de similitud genética entre el donante y el receptor. Es bien sabido que los mecanismos responsables del rechazo son de naturaleza inmunológica; en efecto, los injertos son rechazados más lentamente (e incluso aceptados) en aquellos organismos inmunodeficientes (ya sea en forma innata o adquirida). Por otro lado, se sabe que un injerto entre diferentes individuos de la misma especie provoca la aparición, en el receptor, de anticuerpos específicos y de células T específicas contra los determinantes antigénicos presentes en el injerto.

Los genes que controlan estos procesos han sido llamados genéricamente **genes de histocompatibilidad**. El entendimiento de los mecanismos involucrados en la compatibilidad de los tejidos ha sido el resultado de la colaboración entre diferentes disciplinas. Luego de muchos años de trabajo los genetistas han podido identificar un gran número de genes implicados en este fenómeno, localizarlos en los mapas genéticos de varios mamíferos y estudiar el efecto individual de cada uno de esos genes. Finalmente, los biólogos moleculares han clonado y determinado la secuencia de varios de esos genes, con el propósito de comprender su organización, su funcionamiento y, en particular, su regulación y expresión.

5.1.1 Clasificación de los trasplantes

Los trasplantes se pueden clasificar de acuerdo a tres criterios independientes:

- (i) El primero tiene en cuenta la naturaleza del tejido transplantado. De esta forma hablamos de injerto o trasplante de piel, de riñón, de córnea o cardíaco.
- (ii) El segundo criterio depende del sitio elegido para la re inserción del trasplante en el receptor. Podemos hablar de **trasplantes ortotópicos**, cuando la re inserción se realiza en un tejido de la misma naturaleza que el injerto y de **trasplantes heterotópicos**, cuando el injerto se implanta en un tejido diferente al de origen.
- (iii) El tercer criterio de clasificación es el más empleado por los genetistas. Se establece a partir del grado de similitud existente entre el donante y el receptor. Si el injerto proviene de una especie diferente a la del receptor (por ejemplo, cerdo-hombre), el trasplante recibe el nombre de **xenotrasplante**. Si el donante es de la misma especie que el receptor, pero no se encuentran emparentados genéticamente, hablamos de un **transplan-**

te alogeneico o aloinjerto. Si el injerto proviene de un donante genéticamente idéntico al receptor, situación que se da entre los gemelos monovitelinos o entre las líneas consanguíneas de animales de laboratorio, se lo denomina trasplante **singeneico** o **isogeneico**. Se puede tratar también de un **autoinjerto**, donde el donante y el receptor son el mismo individuo.

5.1.2 Las leyes que gobiernan la aceptación o el rechazo de los trasplantes

El estudio del determinismo genético de la compatibilidad tisular ha sido posible gracias al establecimiento de las líneas consanguíneas de ratones de laboratorio (ver Capítulo IV). Los trabajos iniciales (primera mitad del siglo XX), realizados para evaluar la compatibilidad entre dos individuos (digamos A y B), consistieron en transplantar un tumor del individuo A en B (y el trasplante recíproco) y en observar la toma del tumor, que se traducía muchas veces en la muerte del receptor. Esta técnica fue reemplazada, en los años 50, por el trasplante de pequeños fragmentos de piel, lo cual presenta varias ventajas: (i) en caso de aceptación no provoca la muerte del receptor y éste puede, a su vez, servir de progenitor; (ii) es posible realizar varios injertos de diversos orígenes sobre el mismo receptor y, (iii) la piel es un órgano extremadamente exigente en términos de histocompatibilidad y permite, por lo tanto, poner en evidencia diferencias genéticas “menores” entre el donante y el receptor (por el contrario, muchos tumores pueden prender a pesar de grandes diferencias genéticas).

Utilizando las líneas consanguíneas disponibles en aquella época Little, Bittner, Tyzzer, Strong y Cloudmann establecieron en 1941 las bases genéticas de la compatibilidad de los tejidos. Para interpretar sus resultados experimentales, Little desarrolló (entre 1916 y 1941) la teoría según la cual la aceptación de un injerto estaba basada sobre un determinismo genético que implicaba varios genes (llamados después genes de histocompatibilidad). La aceptación definitiva de un injerto es sólo posible si todos los alelos de histocompatibilidad presentes en el injerto (y por consecuencia en el donante) están también presentes en el receptor. A la luz de la genética molecular, hoy podemos decir que la aceptación de un injerto obedece a un determinismo multifactorial, donde todos los alelos implicados se comportan en forma codominante. Cada alelo de histocompatibilidad es responsable de la síntesis de un antígeno característico situado en la superficie de las células, denominados **aloantígenos**. Las conclusiones derivadas de los estudios de Little y colaboradores las podemos resumir, muy esquemáticamente, en la forma de cinco leyes¹:

Primera ley: Los trasplantes efectuados entre individuos genéticamente idénticos son aceptados (por ejemplo, las líneas consanguíneas y los híbridos F1 entre sí). Una excepción a esta ley es el fenómeno por el cual las hembras de ciertas líneas consanguíneas rechazan (aunque

¹ Como la mayor parte de las leyes biológicas, estas leyes tienen varias excepciones pero conforman una base sólida para el análisis de la compatibilidad tisular

lentamente) los injertos provenientes de machos de la misma cepa. Este fenómeno llevó al descubrimiento de un locus de histocompatibilidad en el cromosoma Y denominado *HY*, del cual existe sólo un alelo.

Segunda ley: Los trasplantes efectuados entre individuos genéticamente diferentes son rechazados. La aseveración de que estos trasplantes son sistemáticamente rechazados es una visión simplificada de la realidad y los ejemplos en su contra son varios: (i) Los trasplantes realizados en sitios inmunológicamente privilegiados (por ejemplo con poca irrigación) tienen mayor sobrevida y hasta pueden ser aceptados. Es el caso de los trasplantes de córnea en el hombre o los trasplantes de ovario en el ratón. (ii) Los tumores, especialmente en el ratón, son muchas veces capaces de crecer en líneas diferentes (trasplante alogeneico), siendo aceptado cada vez más fácilmente a medida que el número de "pasajes" sobre la cepa alogeneica aumenta. (iii) Ciertos tejidos normales como el adiposo, el cartilaginoso y, en menor medida, el ovario pueden ser aceptados por receptores alogeneicos. (iv) Finalmente, el estado inmunológico del receptor juega un papel central en el devenir del injerto. El caso más claro es el de las líneas de ratas y ratones que portan la mutación *nude* (carecen de un timo normal, y por lo tanto de linfocitos T maduros), los cuales son utilizados desde hace años para realizar todo tipo de trasplantes alogeneicos y xenogeneicos en medicina experimental. Lo mismo ocurre con los ratones timectomizados al nacimiento y con otras líneas de ratones severamente inmunodeficientes (ratones SCID, ratones *knock out* para los genes *Rag1* o *Rag2* etc.).

Tercera ley: Los híbridos de primera generación (F1) entre dos líneas consanguíneas aceptan los trasplantes que provienen de sus líneas parentales, pero los trasplantes en sentido inverso (de F1 hacia las líneas parentales) son rechazados. El locus *HX*, ligado al cromosoma X (un locus menor de histocompatibilidad) es una excepción a la tercera ley de trasplantes. Este locus posee varios alelos, lo que hace que no siempre los trasplantes en la dirección cepa parental →F1 ó entre ratones F1 sean aceptados.

Cuarta ley: Los híbridos F1 entre dos líneas consanguíneas aceptan los trasplantes que provienen de todos sus descendientes.

Quinta ley: Los individuos provenientes del cruzamiento de dos híbridos F1 (llamados F2) pueden aceptar (raramente) los trasplantes que provienen de las líneas consanguíneas parentales (y menos frecuentemente de los híbridos F1), pero en general el trasplante en sentido inverso (tejido F2 injertado en cepa parental o F1) es rechazado (**Figura 5.1**).

5.1.3 Biología de los trasplantes

En lo que concierne a la biología de los trasplantes, la importancia de los antígenos de histocompatibilidad es muy variable. Algunos de ellos, como los del **Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH)**, son un obstáculo fundamental para la toma de un injerto y son

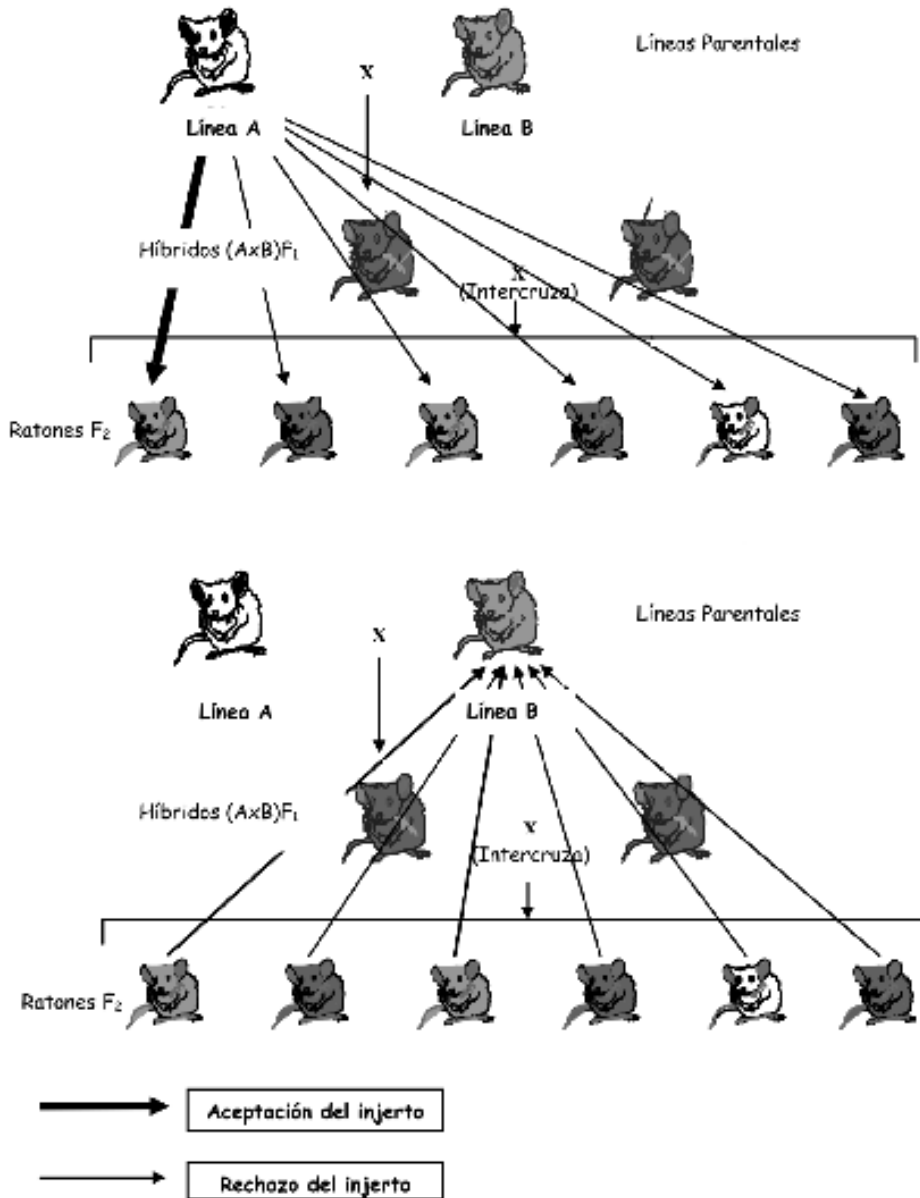


Figura 5.1. Quinta ley de los trasplantes de tejidos. El esquema representa la quinta ley de los trasplantes: observar que los ratones F₂ aceptan (aunque muy raramente) los trasplantes que provienen de las cepas consanguíneas y que el trasplante en sentido inverso (tejido F₂ injertado en cepa parental) es generalmente rechazado.

denominados **loci fuertes** o **mayores**. Otros, por el contrario, representan barreras fácilmente franqueables por lo que se los denomina **loci débiles** o **menores**. La “fuerza” de un locus puede ser evaluada midiendo el **tiempo de sobrevida medio (TSM)** de un injerto. Este debe ser realizado entre ratones que difieran sólo para el locus de histocompatibilidad en estudio y el TSM corresponde al momento en el cual el 50% de los individuos receptores rechazan el injerto. Cuanto más rápido sea ese rechazo más fuerte será considerado el locus estudiado.

Los loci considerados fuertes generalmente rechazan el injerto entre 12 y 14 días post-transplante mientras que para los débiles hay que esperar más de 100 días. Esta noción de “fuerza” de los loci de histocompatibilidad es muy importante, especialmente en referencia a la elección del donante y el receptor en medicina humana y, en menor medida, en medicina veterinaria. Sin embargo, hay varias situaciones a tener en cuenta que pueden modificar la fuerza aparente de un locus de histocompatibilidad:

- (i) Un segundo injerto proveniente del mismo donante siempre es rechazado más rápidamente que el primero debido a la memoria inmunitaria.
- (ii) Al intervenir varios loci menores en conjunto su efecto aditivo puede provocar un rechazo más rápido.
- (iii) El TSM es generalmente más corto cuando las receptoras son hembras.
- (iv) El sentido del injerto entre dos líneas de ratones también puede interferir en el TSM; por ejemplo, cuando se realiza un injerto entre ratones $H1^b$ y $H1^c$ éste es rechazado en 250 días cuando el donante es $H1^b$ y el receptor es $H1^c$ y tan sólo en 25 días cuando se realiza en el sentido inverso.

5.2 La identificación de los genes de histocompatibilidad

La identificación individual de todos los loci de histocompatibilidad ha sido una verdadera “disección genética” realizada, en su mayor parte, entre los años 1945 y 1960 por George D. Snell y sus colaboradores, gracias al establecimiento de líneas consanguíneas de ratones que difieran sólo en un locus de histocompatibilidad. El enfoque utilizado por Snell fue usar un nuevo tipo de esquema reproductivo (basado en retrocruzadas repetidas) para “atrapar” un solo gen de histocompatibilidad proveniente de una cepa “donante” en el fondo genético de una cepa “receptora”. Estas líneas fueron denominadas originalmente **congénicas resistentes** (del inglés *congenic resistant*, CR) pero hoy las conocemos como líneas **congénicas histo-incompatibles**. Fueron diseñadas por un sistema de acoplamiento conocido como cruce-intercruce-retrocruce, evaluando en cada generación la resistencia a un tumor establecido a partir de una de las líneas parentales (ver líneas congénicas en el Capítulo IV). Veamos un ejemplo teórico realizado con tumores de la línea de ratones A (**Figura 5.2**):

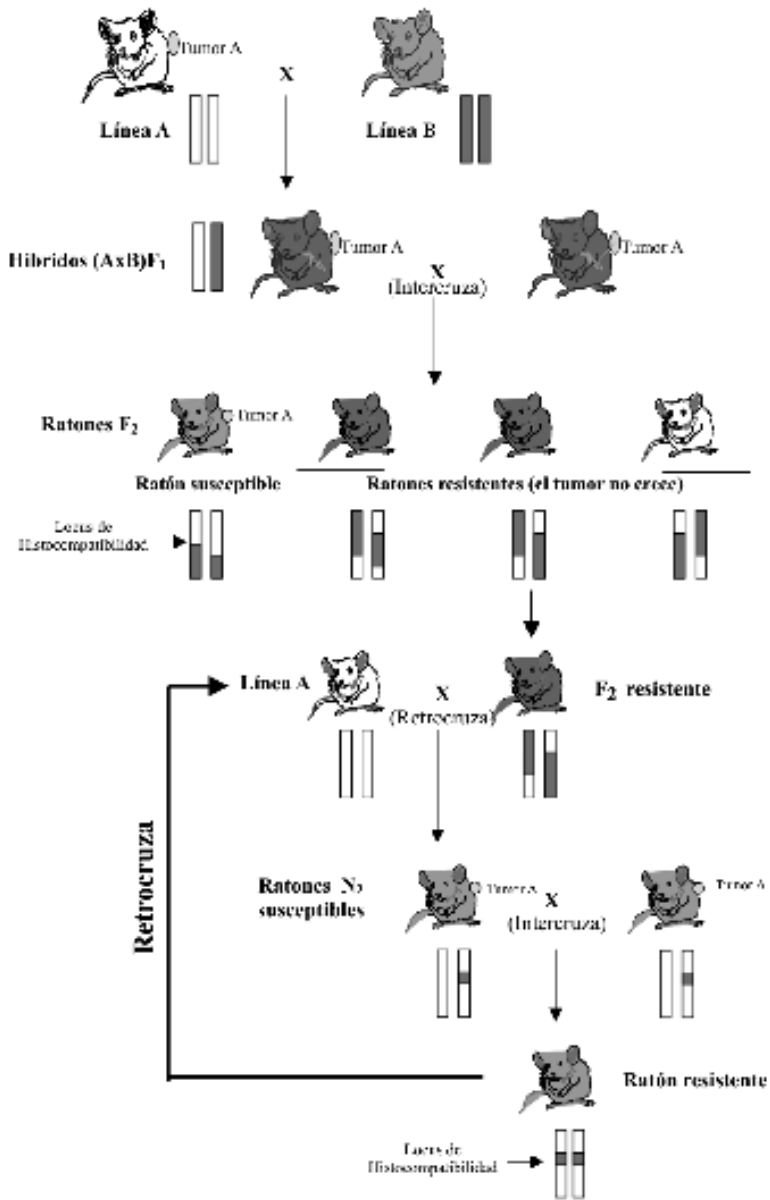


Figura 5.2. Líneas congénicas resistentes. El esquema representa el desarrollo de una línea congénica resistente de A [CR (A)] o congénica histo-incompatible para la línea A. El sistema de acoplamiento utilizado es llamado: cruce-intercruza-retrocruza (para más detalles ver texto).

- (i) Cruzando dos líneas consanguíneas A y B (**cruza**) se obtienen híbridos F1 que aceptan los tumores provenientes de la línea A.
- (ii) Cruzando entre sí estos híbridos F1 (**intercruza**) se obtienen animales F2 de los cuales la mayor parte no acepta los tumores de la línea A (llamados “resistentes” ya que no mueren a causa del tumor).
- (iii) Tomando un ratón F2 resistente -de la intercruza anterior- se lo cruza con un animal de la cepa A (**retrocruza**), obteniendo un nuevo híbrido “susceptible”, o sea que acepta el tumor de la línea A.
- (iv) Se repite la operación varias veces obteniendo individuos F2 resistentes y susceptibles pero reteniendo sólo los resistentes para las retrocruzas. A medida que repetimos la operación la situación se simplifica en cuanto a que el número de genes en juego se reduce, ya que la proporción de fondo genético de origen A aumenta un 50% en cada retrocruza. De esta manera se observa que la proporción de animales susceptibles aumenta en cada generación hasta que se estabiliza en un techo de 75% (obtenido de la proporción 25% H^aH^a , 50% H^aH^b y 25% H^bH^b), lo que significa que en este momento un único gen interviene en el mecanismo de rechazo del injerto.

En esta forma se procedió al establecimiento de líneas congénicas a partir de los individuos F2 resistentes al tumor A [línea congénica resistente de A o CR (A)].

Con el mismo esquema de acoplamiento recién analizado se puede crear toda una serie de líneas CR de A, todas ellas diferentes de A en un locus de histocompatibilidad único. Sin embargo, hay que controlar si todos los loci en los que estas líneas difieren de A son diferentes o, por azar, algunas de esas líneas CR son idénticas. Para esto se inocular el tumor A en un híbrido proveniente de la cruce de dos líneas CR, de las cuales queremos saber su identidad. La toma del tumor (que se traduce en la muerte del híbrido) indica que esas dos líneas CR se han complementado en la F1 y que por lo tanto diferían de la línea A en dos loci diferentes. Es con este tipo de esquemas reproductivos que el enorme y paciente trabajo de Snell y sus colaboradores (en particular Jack Stimpfling, Leroy Stevens y Donald Bailey) ha permitido reconocer y aislar un gran número de genes implicados en el determinismo de la compatibilidad tisular. Como se verá, todos estos genes difieren en sus características y en la importancia que revisten para el rechazo de injertos. En 1980 Snell recibió, junto con J. Dausset y B. Benacerraf, el Premio Nobel de Medicina y Fisiología por estos trabajos.

Actualmente, se conocen en el ratón más de 60 genes implicados en el determinismo de la compatibilidad tisular y muchos de ellos han sido localizados en los mapas genéticos del genoma murino. En regla general son designados por el símbolo *H* (en cursiva) seguido de un número, atribuido según el orden cronológico de descubrimiento (*H1*, *H2*,..., *H45*), aunque existe la excepción del *H2* que fue el primero en ser descubierto y por razones históricas conserva su nombre original. Si bien la mayoría de estos genes de histocompatibilidad codifica para antígenos presen-

tes en la superficie de todas las células del organismo, en muchos casos codifican para antígenos presentes sólo en algunos tipos celulares. Estos genes son designados entonces por un símbolo diferente de *H* que refiere a esta particularidad en su expresión, por ejemplo: *Ly* (*Lymphocyte antigen*), *Ea* (*Erythrocyte antigen*), *Cd* (*cluster determinant*) etc. Los loci presentes en los cromosomas sexuales se denominan *HX* y *HY*. Sin embargo, los genes más importantes con relación a la histocompatibilidad se encuentran formando el CMH, el cual será visto en detalle más adelante.

En resumen, el sistema de histocompatibilidad de los mamíferos posee una estructura (muchos loci repartidos en el ensamble del genoma) que le permite realizar un número casi ilimitado de combinaciones de alelos. De hecho, si consideramos un modelo teórico constituido por 100 loci representados en una población con 4 alelos diferentes cada uno (lo que genera 10 genotipos posibles por cada locus) existen 10^{100} combinaciones posibles de genes de histocompatibilidad.

5.3 El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH)

Entre todos los genes de histocompatibilidad aislados por los genetistas, el CMH tiene, sin dudas, una importancia primordial en los trasplantes y su estructura posee una complejidad excepcional. El término "complejo" hace referencia al gran número de genes presentes en la región, el término "mayor" es debido al papel primordial de estos loci en la biología de los trasplantes y, finalmente, el término "histocompatibilidad" recuerda que estos loci fueron identificados por sus efectos sobre los trasplantes de tejido, aunque está bien claro que no se trata de su función fisiológica. Aunque los genes fueron descriptos a mediados de siglo XX, la función biológica de estas moléculas permaneció como una incógnita hasta el año 1974. En ese año Rolf Zinkernagel y Peter Doherty, trabajando con ratones y virus de la meningitis (LCMV), descubrieron el rol decisivo de las moléculas del CMH en el reconocimiento de los antígenos extraños por el sistema inmune. Por estos trabajos, Zinkernagel y Doherty recibieron el Premio Nobel de Medicina y Fisiología en 1996.

El CMH es una región del genoma que juega un papel fundamental en la discriminación entre lo propio y lo no propio. Esta región de aproximadamente 4 Mb codifica para moléculas que proveen el contexto para el reconocimiento de los antígenos por los linfocitos T. El CMH contiene cuatro grandes categorías de genes:

- (i) Genes de clase I y clase II que codifican para moléculas de presentación de péptidos. Estas moléculas son heterodímeros (estructura formada por dos cadenas polipeptídicas diferentes) que se expresan en la superficie de las células como proteínas integrales de la membrana.
- (ii) Genes involucrados en el procesamiento de los antígenos como *Tap1* (*transporter 1*), *Tap2* (*transporter 2*) y *Tapbp* (*TAP binding protein*).

- (iii) Genes de clase III con función inmunológica pero sin relación (ni evolutiva ni funcional) aparente con los genes de clase I y II (ej.: genes que codifican para los factores de complemento C4 y C2).
- (iv) Genes que no tienen, aparentemente, relación con la función del sistema inmune (ej.: el gene *Rxrb* (*retinoid X receptor beta*) con efectos sobre el desarrollo, la diferenciación y la homeostasis).

Los genes del CMH se heredan generalmente en bloque, donde cada individuo obtiene un grupo de alelos ligados (**haplotipo**) proveniente de la madre y otro del padre, aunque en el ratón de laboratorio se conocen varios haplotipos recombinantes. En el supuesto caso que ambos progenitores sean heterocigotas para un locus (digamos *a/b* la madre y *c/d* el padre), existirán cuatro combinaciones posibles en los hijos: *a/c*, *a/d*, *b/c* y *b/d*. Por lo tanto, sólo el 25% de los hijos podrá ser idéntico a nivel del CMH.

5.3.1 El CMH en el ratón: *H2*

Ya a principios del siglo XX, Carl Jensen y Leo Loeb habían observado que si bien la mayoría de las veces los trasplantes de tumores entre ratones no sobrevivían, algunos de ellos eran aceptados y crecían sin inconveniente. Casi cuatro décadas después, Peter Gorer, un discípulo del gran genetista J.B.S. Haldane, descubre en Londres (1936) lo que posteriormente sería llamado el locus *H2*. Gorer realizó técnicas de hemoaglutinación en las cuales inmunizaba conejos contra glóbulos rojos de una cepa consanguínea de ratón. Con la ayuda de este antisuero de conejo puso en evidencia la existencia de un antígeno presente en las cepas A y CBA, al cual llamó **antígeno II**. Más tarde, trabajando con tumores de ratón (sarcomas), Gorer descubrió que este antígeno, junto con otros factores, determinaba el rechazo del trasplante tumoral. Después demostró que esos anticuerpos también podían ser hallados en el suero de ratones que habían rechazado un injerto proveniente de las cepas A y CBA, por lo tanto el antígeno II debía ser un antígeno de histocompatibilidad. En 1946 Gorer viajó a los Estados Unidos (*The Jackson Laboratory*) para intercambiar notas e ideas con Snell sobre estos antígenos, y en 1948 bautizaron al gen responsable de su síntesis con el nombre de locus *H2*, en referencia al antígeno II.

La idea de que el *H2* poseía muchos genes ligados se obtuvo de la siguiente observación: al realizar una cruce entre individuos de dos líneas de ratones CR (una portando $H2^b$ y la otra $H2^d$) se obtenían híbridos F1 heterocigotas $H2^b/H2^d$. Al retrocruzar estos F1 contra cualquiera de las líneas CR parentales era frecuente obtener ratones incompatibles con ambas líneas parentales a la vez, lo cual implicaba la aparición –por recombinación en los F1– de un nuevo haplotipo. El resultado esperado para un sólo gen hubiese sido la incompatibilidad de los animales de la retrocruza con sólo una cepa parental, por ejemplo, la retrocruza de un F1 ($H2^b/H2^d$) con el parental ($H2^d/H2^d$) da 50% de ratones $H2^b/H2^d$ (compatibles con ambos parentales, o sea que puede recibir injertos $H2^b/H2^b$ y $H2^d/H2^d$) y 50% de ratones $H2^d/H2^d$

(compatibles sólo con el parental $H2^d/H2^d$). Es por esta razón que el locus $H2$ fue llamado "**complejo H2**" y el término alelos fue reemplazado por el de haplotipo (conjunto de alelos ligados, sobre un mismo cromosoma).

La identificación de todos los genes contenidos en esta región fue realizada a lo largo de los años (por varios laboratorios) haciendo uso de una caracterización serológica de los individuos, gracias al desarrollo de diferentes antisueros. De esta manera, conociendo el genotipo de las líneas parentales resultaba fácil saber si el animal analizado era o no recombinante (o sea si portaba un nuevo haplotipo no reconocido por el antisuero), sin la necesidad de realizar trasplantes múltiples. Esta estrategia, la única disponible en la época, permitía identificar sólo los genes que eran polimórficos entre los progenitores.

A medida que se fueron acumulando los datos experimentales sobre esta zona (una de las más estudiadas del genoma), quedaron en evidencia tres propiedades fundamentales del complejo $H2$:

- (i) Se trata de varios loci de histocompatibilidad muy fuertes y representan, sin duda, el obstáculo más importante para los trasplantes.
- (ii) Posee muchos alelos y son sorprendentemente polimórficos en la población.
- (iii) Posee una estructura muy compleja que aún no ha sido revelada en su totalidad.

Los genes del complejo $H2$ se sitúan muy cerca unos de otros en un segmento del cromosoma 17 del ratón. Si bien se han identificado más de 80 genes en el CMH, los loci mejor caracterizados son divididos en dos clases: alrededor de 20 loci de clase I y 15 loci de clase II (A y B, según codifique para las cadenas a y b, respectivamente). A su vez, los genes de clase I se dividen en clásicos (clase Ia) y no clásicos (clase Ib). Esta distinción fue hecha para separar aquellos genes que participan en la presentación de antígenos (clásicos) de los que no tienen una función definida (no-clásicos).

Dispuestos entre estos dos grupos de genes se encuentra una colección heterogénea de más de 30 genes de clase III, incluyendo algunos factores del complemento (C2, C4 y el factor B), proteínas del "shock calórico" (HSP70) y el factor de necrosis tumoral (TNF a y b), entre otros. Esta región de clase III tiene la particularidad de presentar una estructura muy compacta de genes, en relación al resto del genoma, con un promedio de un gen cada 15 kb. Los productos de los genes de clase I (loci $H2-K$, $H2-D$, $H2-L$) y clase II (loci $H2-Aa$, $H2-Ab$, $H2-Ea$, $H2-Eb$) están involucrados en la presentación de antígenos a los linfocitos T (**Figura 5.3**).

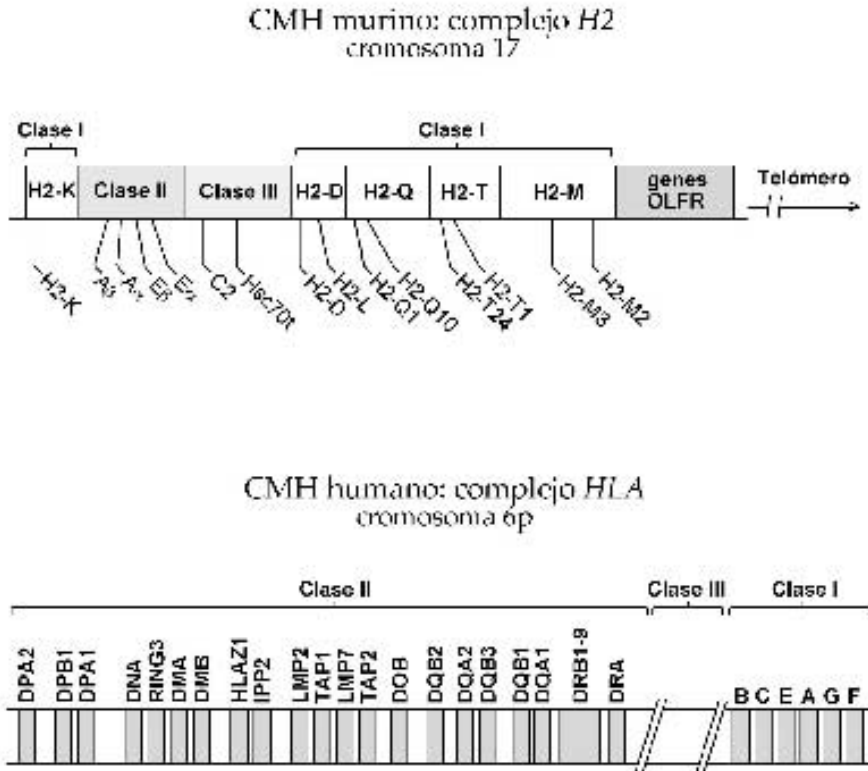


Figura 5.3. Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Representación esquemática de las distintas regiones y loci que conforman el CMH del ratón (*H2*) en el cromosoma 17 y el CMH del hombre (*HLA*) en el brazo corto (p) del cromosoma 6.

5.3.2 El polimorfismo del CMH

Los genes del CMH son los genes codificantes más polimórficos jamás descritos. Entendemos por **polimorfismo** a las formas alternativas (**variantes alélicas**) de un mismo gen presentes en una población. El polimorfismo del CMH se caracteriza por dos aspectos: la existencia de un número enorme de alelos en la población (presentes en una alta proporción cada uno de ellos) y la gran diversidad genética entre estos alelos. Por ejemplo, se han secuenciado más de 200 alelos diferentes a partir de los genes de clase I en el humano (*HLA-A, B y C*). Debido a esta enorme diversidad genética y a los recientes avances en técnicas moleculares es que los genes HLA se han convertido en una herramienta útil en los estudios de genética poblacional, antropología y diversidad del genoma humano. Esta gran diversidad de alelos existe también en el ratón, en el que se han descrito más de 100 alelos de clase I y muchos alelos de clase II (**Tablas 5.1 y 5.2**). Una de las hipótesis acerca del origen de este polimorfismo plantea que las múltiples formas alélicas de las moléculas de clase I expanden el repertorio de

Haplotipo	H2 loci										
	K	A _y	A _x	E _y	E _x	S	D	L	Qa ²	Tla	Qa ¹
a	k	k	k	k	k	d	d	d	a	a	a
b	b	b	b	b	b	b	b	b	a	b	b
d	d	d	d	d	d	d	d	d	b	d	b
f	f	f	f	f	f	f	f	f	b	d	b
i	j	j	j	j	j	j	b	b	a	b	b
k	k	k	k	k	k	k	k	k	b	b	b
m	k	k	k	k	k	k	q	q	a	a	a
p	p	p	p	p	p	p	p	p	b	e	a
q	q	q	q	q	q	q	q	q	a	b	b
r	r	r	r	r	r	r	r	r	b	b	b
s	s	s	s	s	s	s	s	s	a	b	b
u	u	u	u	u	u	u	d	d	a	a	a
v	v	v	v	v	v	v	v	v	a	b	b
z	u	u	u	u	u	z	z	z	b	b	b

Tabla 5.1 El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) en el ratón. Alelos más comunes de los haplotipos del CMH del ratón. Loci de clase I: K, S, D, L, Qa y Tla. Loci de clase II: A_y, A_x, E_y, y E_x.

Línea	Haplotipo H2	Línea	Haplotipo H2	Línea	Haplotipo H2
A	a	C57BL/10	b	FVB	q
AKR	k	C58	k	NZB	d
BALB/c	d	C3H	k	NZW	z
CBA	k	DBA/1	q	SJL	s
C57BL/6	b	DBA/2	d	129	b

Tabla 5.2. El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) en el ratón. Haplotipos del complejo H2 en las líneas consanguíneas de ratones más populares.

las células T y por lo tanto hacen más difícil la posibilidad de que un virus epizootico pueda eliminar completamente una población.

Los mecanismos moleculares implicados en el mantenimiento de este polimorfismo excepcional son diversos y aún generan controversia entre los investigadores. Entre ellos se destacan las **mutaciones puntuales**, los **entrecruzamientos** (del inglés *crossing over*) **desiguales**, la **conversión génica**, la **selección natural** y la **deriva génica**. Existen estudios que respaldan la hipótesis de que el polimorfismo del CMH es mantenido, al menos en parte, por la elección no azarosa de la pareja reproductiva, aunque este planteo es muy discutible.

5.3.3 Origen y evolución del CMH

La presencia de un sistema inmune adaptativo completo, definido por la presencia de receptores de células T (TCR), inmunoglobulinas (Igs) y moléculas del CMH, ha sido descrita en los vertebrados a partir de los peces teleósteos (óseos). Las dudas sobre el origen del CMH parecen haber sido resueltas recientemente con el descubrimiento de **regiones parálogas** (que evolucionaron paralelamente -por duplicación- de un gen ancestral común) del CMH en el ratón y el hombre. Es decir que estas regiones emergieron como resultado de una duplicación cromosómica producida, aparentemente, en un ancestro común a todos los vertebrados con mandíbula, antes de su divergencia de los peces sin mandíbulas (primitivos vertebrados como la lamprea que no tienen un CMH ni genes de la familia de las Igs). Estas observaciones señalan la importancia evolutiva que tienen los fenómenos de duplicación cromosómica en la creación de sistemas cada vez más complejos en los organismos vivos. En los peces cartilaginosos (tiburones y rayas) fueron descriptos genes TCR, de Ig y del CMH de clase II; aunque estos últimos fueron descriptos como polimórficos, aparentemente su respuesta inmune es muy primitiva, siendo muy lentos los rechazos entre individuos no relacionados.

La aparente contradicción entre el aspecto estable del CMH (el orden de los genes y la estructura básica de la molécula se mantienen desde hace cientos de millones de años) y su inestabilidad (la generación continua de nuevos alelos por mutaciones o recombinación genética) puede interpretarse como la necesidad del CMH de acomodarse a dos fuerza evolutivas opuestas. Una es la necesidad de entenderse con los linfocitos T, y esto requiere cierta estabilidad de las moléculas, de otra forma no se reconocerían entre sí. La otra fuerza es la necesidad de arreglárselas con el extremadamente variable y siempre cambiante mundo de los parásitos, lo que requiere flexibilidad y por lo tanto cierta inestabilidad. Estas son las dos caras del CMH, una mirando hacia el mundo propio (linfocitos T) y la otra hacia el mundo exterior (parásitos).

5.3.4 El CMH en los roedores de laboratorio

Durante los años que sucedieron al descubrimiento del CMH en el ratón, estos genes fueron hallados en las aves (1950), el hombre (1958), la rata (1960) y los animales domésticos (el CMH del gato fue uno de los últimos en ser descripto, en 1982). Hoy en día se sabe que en todos los vertebrados existe un determinismo genético para la compatibilidad tisular que es análogo al descubierto originalmente en el ratón. A excepción del CMH del ratón y la rata, los estudios sobre el CMH de los roedores no están demasiado desarrollados.

En 1960, dos grupos de investigadores (uno en New York y otro en Praga) descubrieron en forma independiente el CMH de la rata. Recién en 1971 se estableció el nombre tal cual lo conocemos actualmente: *RTI*. Este complejo de genes se encuentra localizado en el cromosoma 20 de la rata y tiene una estructura -en cuanto al orden de los genes- similar a la descripta en el ratón, aunque con la particularidad de que la rata de laboratorio tiene un polimorfismo limitado de los genes de clase I.

En 1972 fue descrito el CMH del cobayo, denominado *GPLA* (del inglés *guinea pig*). Como hemos visto en el Capítulo III, a pesar de estar clasificado como roedor, según algunos autores este animal originario de sudamérica pertenecería a otro orden de mamíferos. El CMH del hámster Sirio fue descrito en 1978 y fue denominado *Hm1*. Existe una particularidad con el *Hm1* que ha llamado mucho la atención de los investigadores: las moléculas de clase I en el hámster sirio son serológicamente idénticas (no se encuentra el polimorfismo descrito en todas las demás especies), aunque simultáneamente posee moléculas de clase II polimórficas. Esto sería debido fundamentalmente al hecho de que todos los hámsters Sirio disponibles en los laboratorios tienen como único origen tres individuos capturados en Siria en el año 1930. Por otro lado, Watkins y colaboradores han descrito la existencia de diversidad genética de los genes de clase I en estudios realizados con hámsters Sirio en estado salvaje. Finalmente, uno de los últimos CMH identificado en roedores (y el primero en roedores salvajes) es el de la rata topo (en inglés, *mole rat*), descrito en 1984 y bautizado como *Smh*.

5.3.5 El CMH y la elección de pareja reproductiva.

Si bien es sabido que los genes del CMH juegan un papel fundamental en la respuesta inmune celular, existen pocos estudios sobre otros aspectos de estos genes. En las dos últimas décadas, surgieron investigaciones arrojando luz sobre otras funciones; entre ellas, unas de las más interesantes es la influencia de estas moléculas en la elección del compañero reproductivo. Los trabajos en líneas consanguíneas de ratones sugieren que esta elección está influenciada por la disimilitud de los genes del CMH.

Apenas dos años después del descubrimiento de la función fisiológica del CMH, se describió por primera vez que el comportamiento reproductivo de los ratones estaría influenciado por el tipo de *H2*. Específicamente, cuando a un ratón macho se le daba a elegir entre una hembra similar o diferente a nivel del *H2*, aquel mostraba una clara preferencia hacia las hembras con *H2* diferente. Vale la pena aclarar que estas experiencias fueron realizadas con líneas que diferían sólo a nivel del *H2* (líneas CR) y por lo tanto el resto del genoma entre los animales era idéntico. En estos experimentos, la detección de diferencias entre individuos a nivel del CMH fue relacionada a rastros olfatorios, presentes principalmente en la orina. Datos muy recientes confirman que otro grupo de proteínas presente en la orina de los ratones, llamadas **proteínas urinarias mayores** (en inglés, *major urinary proteins* o MUP's), estarían también implicadas en el reconocimiento individual entre ratones. Las MUP's son mucho más abundantes en la orina que los fragmentos de CMH e incluso que las feromonas.

De esta forma, se cree que la similitud en el CMH podría servir como un indicador general de cercanía genética (o parentesco) dentro de la población y por lo tanto la elección de pareja reproductiva basada en estas moléculas sería esencial para evitar la consanguinidad extrema. Esto es particularmente cierto en el ratón, cuyo comportamiento social favorece la presencia de "parientes cercanos" en el entorno.

Por otro lado, la condición física en los animales de larga vida depende mucho de la habilidad que tengan para responder a las infecciones, y en este sentido, los alelos individuales del CMH son determinantes de la calidad de la respuesta inmune, ya que, a diferencia de los genes TCR e Ig, los genes del CMH no se recombinan genéticamente en forma somática. Por esto, la elección del compañero adecuado serviría para seleccionar aquellos alelos “exitosos” dentro de la población, proveyendo a sus crías de una buena inmunidad contra los patógenos del entorno.

5.3.6 Asociación entre haplotipos del CMH y enfermedad

Hace ya varias década que se ha establecido una clara asociación entre ciertos haplotipos del CMH y enfermedades autoinmunes como la diabetes mellitus tipo I (insulina-dependiente) y la artritis reumatoidea. El primer artículo sobre una asociación de este tipo en humanos fue publicado en 1971 para el Lupus Eritematoso Sistémico. Desde ese entonces, más de treinta enfermedades autoinmunes han sido asociadas con algún genotipo particular del CMH. Recientemente, con la disponibilidad de las secuencias de ADN de muchos genes del CMH del hombre y del ratón, la asociación con ciertos alelos ha sido restringida a nivel de algunas secuencias polimórficas específicas. Por ejemplo, en los humanos se estableció la asociación entre la diabetes tipo I y la falta de un aminoácido en ciertos alelos de clase II (HLA-DQ cadena b). Además, estos alelos “susceptibles” se encuentran presentes también en la línea de ratones NOD, usados mundialmente como modelo de diabetes tipo I (ver Capítulo IX). No sólo se han encontrado alelos de clase II susceptibles sino que también existen alelos que tienen un efecto protector de la diabetes. Estos alelos protectores actuarían a través de la selección positiva de clones de linfocitos T que no participan en el desarrollo de la enfermedad autoinmune.

Nomenclatura del CMH:

El CMH recibe diferentes nombres según las especies. A los clásicos *H2* del ratón, *RT1* de la rata, *B* del pollo y *HLA* del humano se fueron sumando nuevas siglas basadas en el símbolo LA (por *Lymphocyte* o *Leukocyte Antigen*) para representar las demás especies. Anteponiendo la primera letra –o primeras dos letras– del nombre común de la especie (en inglés) se logran los símbolos con los cuales se representa el CMH de la mayoría de las especies. De esta manera se llama *ChLA* en el chimpancé, *GoLA* en el gorila, *RLA* en el conejo, *BoLA* en los bovinos, *SLA* en el cerdo, *ELA* en el caballo etc. A pesar de que es ampliamente utilizada, esta nomenclatura tiene dos grandes críticas. Primero, los productos del CMH se expresan en otros tejidos (y no sólo en los linfocitos) y su antigenicidad es secundaria a su función biológica. Segundo, el uso de los nombres comunes para identificar las especies es una fuente potencial de confusiones debido a que los nombres comunes son vagos e imprecisos. Por ejemplo, el término ratón puede estar haciendo referencia a los géneros *Mus*, *Notomys*, *Acomys*, *Pogomys* y *Peromiscus*, entre muchos otros. Es por esto que Jan Klein y colaboradores (*Max Plank Institut, Tübingen, Alemania*) propusieron una nueva nomenclatura más apropiada para utilizar en las diferentes especies. Estos autores propone utilizar el símbolo *Mhc* (primera letra solamente en mayúscula) seguido por una abreviatura de cuatro letras obtenida del nombre científico de las especies. De esta manera, *MhcGogo* es el CMH del gorila (*Gorilla gorilla*), *MhcBota* el del ganado bovino (*Bos taurus*), *MhcMeau* en el hámster (*Mesocricetus auratus*), *MhcCapo* en el cobayo (*Cavia Porcellus*) etc.

Bibliografía General

- ADAMS EJ, PARHAM P. *Species-specific evolution of MHC class I genes in the higher primates*. Immunological Reviews 183: 41-64, 2001.
- AMADOU C, KUMANOVICS A, JONES EP, LAMBRACHT-WASHINGTON D, YOSHINO M, LINDAHL KF. *The mouse major histocompatibility complex: some assembly required*. Immunological Reviews 167: 211-221, 1999.
- BECK S, TROWSDALE J. *The human major histocompatibility complex: lessons from the DNA sequence*. Annual Review of Genomics and Human Genetics 1: 117-137, 2000.
- DOXIADIS GG, OTTING N, DE GROOT NG, BONTROP RE. *Differential evolutionary MHC class II strategies in humans and rhesus macaques: relevance for biomedical studies*. Immunological Reviews 183: 76-85, 2001.
- DRESSEL R, WALTER L, GUNTHER E. *Genomic and functional aspects of the rat MHC, the RT1 complex*. Immunological Reviews 184: 82-95, 2001.
- FLAJNIK M. *The immune system of ectothermic vertebrates*. Veterinary Immunology and Immunopathology 54: 145-150, 1996.
- GROB B, KNAPP LA, MARTIN RD, ANZENBERGER G. *The major histocompatibility complex and mate choice: inbreeding avoidance and selection of good genes*. Experimental and Clinical Immunogenetics 15: 119-129, 1998.
- GROMME M, NEEFJES J. *Antigen degradation or presentation by MHC class I molecules via classical and non-classical pathways*. Molecular Immunology 39: 181-202, 2002.
- GUNTHER E, WALTER L. *The major histocompatibility complex of the rat (Rattus norvegicus)*. Immunogenetics 53: 520-542, 2001.
- HANSEN T, BALENDIRAN G, SOLHEIM J, OSTROV D, NATHANSON S. *Structural features of MHC class I molecules that might facilitate alternative pathways of presentation*. Immunology Today 21: 83-88, 2000.
- HURST JL, PAYNE CE, NEVISON CM, MARIE AD, HUMPHRIES RE, ROBERTSON DH, CAVAGGIONI A, BEYNON RJ. *Individual recognition in mice mediated by major urinary proteins*. Nature 414: 631-634, 2001.
- JORDAN W, BRUFORD M. *New perspectives on mate choice and the MHC*. Heredity 81: 127-133, 1998.
- KASAHARA M, NAKAYA J, SATTA Y, TAKAHATA N. *Chromosomal duplication and the emergence of the adaptive immune system*. Trends in Genetics 13: 90-92, 1997.
- KLEIN G. *Remembering George Snell*. Immunogenetics 46: 2, 1997.
- KLEIN J. (Ed). *Natural History of the Major Histocompatibility Complex*. Wiley-Interscience, New York, 1986.
- KLEIN J, TAKAHATA N. *The Major Histocompatibility Complex and the quest for origins*. Immunological Reviews 113: 5-25, 1990.
- KLEIN J, BONTROP RE, DAWKINS RL, ERLICH HA, GYLLENSTEN UB, HEISE ER, JONES PP, PARHAM P, WAKELAND EK, WATKINS DI. *Nomenclature for the major histocompatibility complexes of different species: a proposal*. Immunogenetics 31: 217-219, 1990.
- LI WH, HIDE WA, ZHARKIKH A, MA DP, GRAUR D. *The molecular taxonomy and evolution of the guinea pig*. Journal of Heredity 83: 174-181, 1992.
- MCDEVITT HO. *The role of MHC class II molecules in susceptibility and resistance to autoimmunity*. Current Opinion in Immunology 10: 677-681, 1998.
- McKENZIE IF. *George Snell-Reminiscences 1969-1990*. Immunogenetics 46: 10-16, 1997.
- POTTS WK, WAKELAND EK. *Evolution of MHC genetic diversity: a tale of incest, pestilence and sexual preference*. Trends in Genetics 9: 408-412, 1993.
- RIDGWAY W, FATHMAN G. *The association of MHC with autoimmune diseases: understanding the pathogenesis of autoimmune diabetes*. Clinical Immunology and Immunopathology 86: 3-10, 1998.
- ROBINSON JH, DELVIG AA. *Diversity in MHC class II antigen presentation*. Immunology 105: 252-262, 2002.
- ROGERS NJ, LECHLER RI. *Allorecognition*. American Journal of Transplantation 1: 97-102, 2001.
- RUDOLPH MG, WILSON IA. *The specificity of TCR/pMHC interaction*. Current Opinion in Immunology 14: 52-65, 2002.

- SILVER L. M. (Ed). *Mouse Genetics. Concepts and applications*. Oxford University Press, Oxford, 1995. (Versión online disponible en <http://www.informatics.jax.org/silver/>)
- TING JP, TROWSDALE J. *Genetic control of MHC class II expression*. *Cell* 109: S21-S33, 2002.
- TROWSDALE J. *Genomic structures and function in the MHC*. *Trends in Genetics* 9: 117-122, 1993.
- WATKINS DI, CHEN ZW, HUGHES AL, LAGOS A, LEWIS AM JR, SHADDUCK JA, LETVIN NL. *Syrian hamsters express diverse MHC class I gene products*. *Journal of Immunology* 145: 3483-3490, 1990.
- YEAGER M., HUGHES A. *Evolution of the mammalian MHC: natural selection, recombination, and convergent evolution*. *Immunological Reviews* 167: 45-58, 1999.
- YUHKI N, O'BRIEN SJ. *DNA variation of the mammalian major histocompatibility complex reflects genomic diversity and population history*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 87: 836-840, 1990.