

# MEDICINA



## INDICE

### MEDICINA

- EL DESEQUILIBRIO DE ENLACE GENETICO  
EN EL COMPLEJO MAYOR DE  
HISTOCOMPATIBILIDAD (CMH)  
Drs. Edmond J. Yunis, Iván Yunis ..... 2
- GUIA PARA EL MANEJO QUIRURGICO  
DEL CANCER DE PANCREAS  
Dr. José Félix Patiño ..... 13
- PARASITOSIS Y MICOSIS  
DEL SISTEMA CENTRAL COMO CAUSA  
DE EPILEPSIA EN ADULTOS  
Dr. Alejandro Jiménez Arango ..... 19

### LETRAS

- LA PERSONALIDAD DE  
JOSE ASUNCION SILVA  
José Francisco Socarrás ..... 25
- TECNOLOGIA, CALIDAD DE ATENCION  
Y COSTOS DE LAS ACTIVIDADES MEDICAS.  
ENFOQUE POR SINDROMES  
Ricardo Galán Morera ..... 40
- HOMENAJE A DON GREGORIO MARAÑON  
EN EL CENTENARIO DE SU NACIMIENTO  
Dr. Fernando Serpa Flórez ..... 43
- CIENCIA, SALUD PUBLICA  
Y EDUCACION MEDICA. ANALISIS  
CRITICO DEL PANORAMA ACTUAL.  
Dr. José Félix Patiño ..... 46



ACADEMIA  
NACIONAL  
DE MEDICINA  
DE COLOMBIA

18

ISSN  
0120-5498

1.987

# «Vita-Vit»

## MULTIVITAMINICO MASTICABLE



### «Vita-Vit»

suple las necesidades vitamínicas que la dieta normal no cubre.

- Suplemento con calcio y vitaminas
- Su sabor a tutti-frutti asegura su aceptación
- Su administración garantiza una dieta balanceada a niños de 2 - 12 años

Dosis: 4 comprimidos diarios

### «Vita-Vit»

cubre las necesidades vitamínicas requeridas por la actividad, crecimiento y desarrollo en niños entre 2 y 12 años



**COMPOSICION:** Cada comprimido contiene: Vitamina A 2,500 UI, Vitamina B1 0,75 mg, Vitamina D 400 UI, Vitamina E 2,5 UI, Vitamina B2 0,9 mg, Vitamina B6 0,375 mg, Vitamina B12 2 mcg, Nicotinamida 7,5 mg, Vitamina C 35,0 mg, Pantotenato de calcio 2,0 mg.

**PRESENTACION:** Frasco con 50 comprimidos masticables. Reg. M-006068 M.S.

**BIBLIOGRAFIA:** 1. DAZA, C.H. "Vitamin Deficiencies in Latin America and the Caribbean". Pan American Health Organization, Washington, D.C., U.S.A. International Journal for Vitamin and Nutrition Research Supplement No. 27, pág. 9 - 17 (1985).  
2. BAKER, H. and FRANK, O. "Sub-Clinical Vitamin Deficits in Various Age Groups". New Jersey Medical School, Newark, New Jersey, U.S.A. International Journal for Vitamin and Nutrition Research. Supplement No. 27, pág. 47 - 59 (1985).

Mayor información en Productos Roche S. A.  
A. A. 14437 Bogotá - Colombia «Vita-Vit» = Marca de Fábrica



Ciencia y conciencia de investigación

# MEDICINA

ORGANO INFORMATIVO DE LA ACADEMIA  
NACIONAL DE MEDICINA DE COLOMBIA

(FUNDADA EL 3 DE ENERO DE 1873, RECONOCIDA POR LA LEY 71 de 1890  
CON EL CARACTER DE ORGANO CONSULTIVO DEL GOBIERNO NACIONAL)

NUMERO 18 NOVIEMBRE  
1987

ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

Calle 60A No. 5-29 – Teléfonos 249 3122 - 212 0371 – Apartado Aéreo 23224  
Bogotá – Colombia

## JUNTA DIRECTIVA

Presidente	Pablo Gómez Martínez
Vicepresidente:	Gilberto Rueda Pérez
Secretario Perpetuo:	César Augusto Pantoja
Secretario:	Roberto Vergara Támara
Tesorero:	Hernando Castro Romero

## CONSEJO EDITORIAL

Académicos

Mario Camacho Pinto – Alvaro López Pardo  
Fernando Serpa Flórez – Juan Mendoza-Vega  
Alberto Albornoz-Plata



A.A. No. 9315 Bogotá - Colombia - Sudamérica  
Tels.: 288 02 07 - 288 02 27

# MEDICINA

## EL DESEQUILIBRIO DE ENLACE GENETICO EN EL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (CMH)

Doctor Edmond J. Yunis  
Profesor de Patología de la  
Escuela de Medicina  
Universidad de Harvard  
Boston, Massachusetts USA

Doctor Iván Yunis  
Research Fellow de Pediatría de la  
Escuela de Medicina  
Universidad de Harvard  
Boston, Massachusetts USA

### INTRODUCCION A LA INMUNOGENETICA

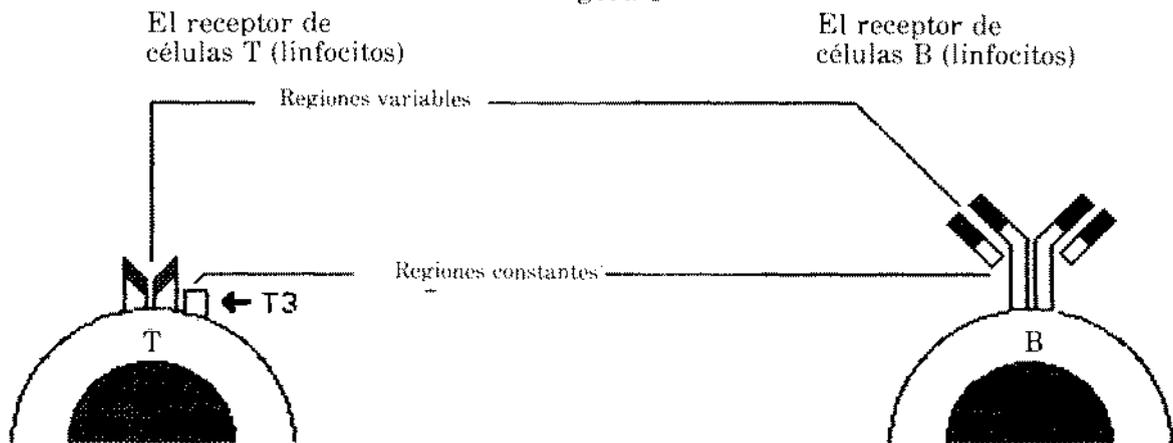
Inmunogenética es el campo de la inmunología y de la genética que estudia los genes que controlan la síntesis de los productos celulares que están involucrados en la respuesta inmune, y en menor grado, de la variabilidad de estas proteínas usando métodos inmunológicos.

Aunque se sabe que existen por lo menos 10 sistemas genéticos que interactúan en la producción de las células y/o factores de la respuesta inmunológica, los dos más importantes y mejor estudiados son: el complejo mayor de histocompatibilidad y los genes de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas. En esta conferencia describiremos, y sólo de manera introductoria, el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), también llamado HLA.

Los productos de los genes del CMH se definen como las glicoproteínas de la membrana celular que son reconocidas por receptores en la membrana de los linfocitos T.

Las células T constituyen la mayor parte de los linfocitos circulantes; son células que reciben su educación en el timo durante el período prenatal y postnatal de tal modo que desarrollan la capacidad de reconocer solamente los antígenos del CMH del propio individuo sin que ello desencadene la activación celular. Sin embargo, los receptores de las células T pueden provocar la activación cuando un antígeno extraño (viral, bacteriano; químico, etc.) se combina con una molécula del CMH. Así se inicia la respuesta inmunológica (Fig. 1).

Figura 1



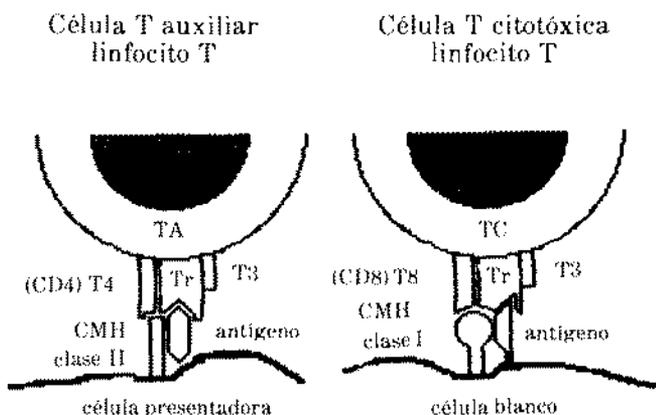
Las células B tienen inmunoglobulinas como receptores de antígeno, y las T tienen receptores de antígeno asociados a la molécula T3 (CD3)

Modificado de Roitt, I et al. (1).

Los linfocitos T se subdividen en varias clases de acuerdo con sus funciones y con los diferentes marcadores de la membrana celular (proteínas identificadas por anticuerpos). Por ejemplo, las células T ayudantes o auxiliares (A) en el humano se reconocen por un marcador especial CD4 y las células T (C) citotóxicas —que constituyen un número menor de células circulantes— por un marcador especial CD8.

Estas dos clases de células constituyen las células efectoras más importantes en la respuesta inmune (Fig. 2).

Figura 2



Hipótesis para explicar el reconocimiento del antígeno por células T. La molécula CMH de clase II con un antígeno es reconocida por la molécula CD4 en unión del complejo T3 con el receptor de tal modo que existe restricción. En cambio la célula citotóxica estimulada por una célula blanco reconoce a la molécula CMH clase I en unión con antígeno por medio de la molécula CD8 unida al complejo T3 con el receptor, produciendo restricción inmunológica.

Modificado de Roitt, I. et al. (1).

Las células T (A) proliferan en presencia de las glicoproteínas del CMH llamadas antígenos de histocompatibilidad de clase II y las células T (C) proliferan en presencia de las glicoproteínas del CMH llamadas antígenos de histocompatibilidad de clase I. Claro que la activación y proliferación de estas células no ocurre normalmente en ausencia de un antígeno puesto que cada individuo elimina (en el timo), durante la vida fetal, las células capaces de reaccionar con los antígenos del CMH propios. Por lo tanto, la activación y proliferación de los linfocitos T ocurre cuando los receptores de las células T (A) reaccionan con moléculas de clase II en conjunto con antígenos extraños como antígenos virales o bacterianos. Y los receptores de las células T (C) reaccionan principalmente con moléculas de clase I en conjunto con antígenos virales. Es importante observar que la reacción de las células T (A) con el complejo molécula de clase II-antígeno, que ocurre por intermedio de células adherentes como el macrófago, es una reacción del brazo aferente

de la respuesta inmune. En cambio, la reacción de las células T (C) con el complejo molécula de clase I-antígeno, que ocurre con células blanco por ejemplo infectadas por virus, es una reacción del brazo eferente de la respuesta inmune.

Los linfocitos T (A) activados también interactúan con otras células del sistema inmunológico para producir diferentes reacciones: de inmunidad humoral, mediadas por linfocitos B que sintetizan anticuerpos; de inmunidad celular, mediada por linfocitos T (C) que inducen citotoxicidad, o de hipersensibilidad retardada (tipo tuberculina) en la que participan monocitos.

Es necesario hacer hincapié en este momento en que las moléculas más importantes de la inmunidad específica son los antígenos de histocompatibilidad de clase II, que combinados con una sustancia extraña (antígeno) son presentados por la célula adherente (el macrófago) a los linfocitos T auxiliares. Sin esta reacción la mayoría de las respuestas inmunológicas específicas no ocurriría.

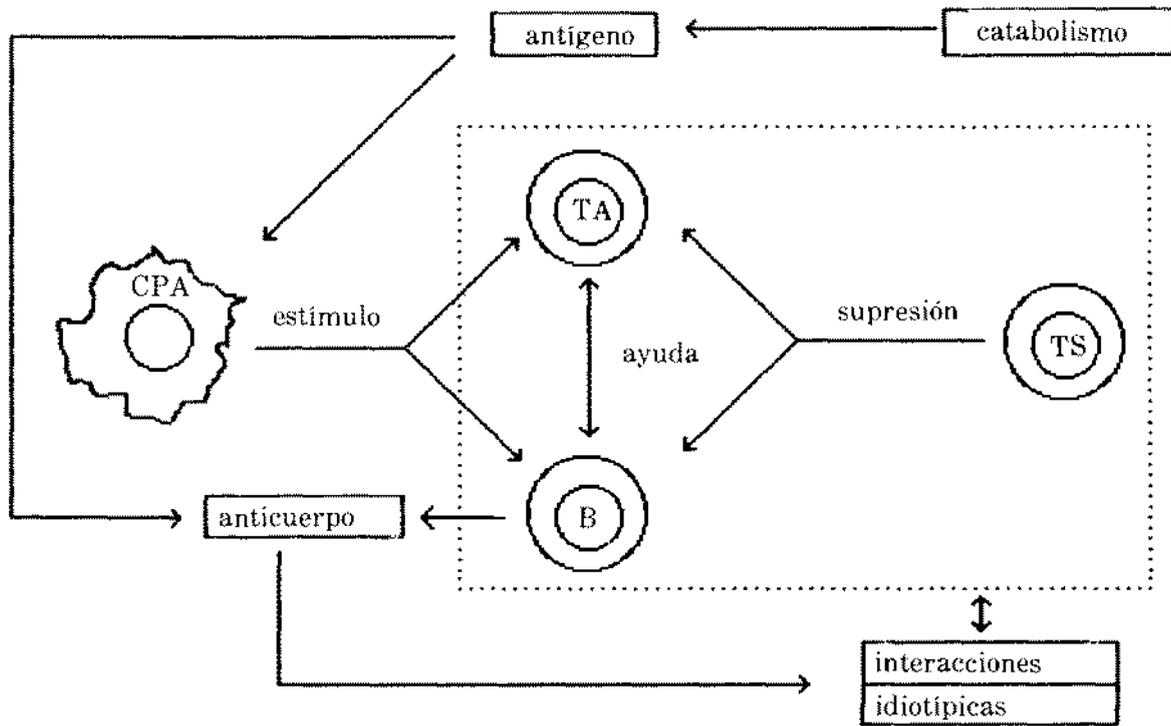
Un hecho interesante es la existencia de antígenos pequeños llamados haptenos que requieren moléculas transportadoras para que puedan producir reacciones efectoras de inmunidad humoral o celular. Sin embargo, pueden provocar la activación de una tercera clase de linfocitos T, llamados supresores (Ts) puesto que son capaces de regular la respuesta inmune.

Con base en las interacciones normales de las células que participan en la respuesta inmune ha sido posible determinar que existen genes de respuesta inmune (Ir) —principalmente los del CMH de clase II— y que el vigor o la debilidad de una respuesta inmunológica depende de la presencia o alteración de la interacción entre el antígeno con las moléculas de clase II y el receptor de las células T (A). Estos fenómenos de interacción incluyen: a) la normal o defectuosa presentación del antígeno, b) la presencia o ausencia de células T que reconozcan el antígeno en conjunto con moléculas clase II y c) la proliferación de células T (A) concomitantemente con la proliferación normal o excesiva de células T supresoras (Fig. 3).

Como se ve en el diagrama, existen interacciones entre las células supresoras (Ts), las células T auxiliares (TA) y los linfocitos B. Es necesario tener en cuenta que la interacción entre células y anticuerpos en la regulación de la respuesta inmune es compleja y el diagrama es muy simplificado. Se conocen dos formas de inhibición mediadas por anticuerpos: la red de idiotipos—antidiotipos y mecanismos de retroalimentación frente al antígeno. En la primera, la región variable de la inmunoglobulina puede provocar una reacción antígeno-anticuerpo que por sí misma es inhibitoria. La inhibición puede ser celular —mediada por células supresoras— mientras que en la estimulación las células presentadoras de antígeno lo presentan a las células auxiliares y a los linfocitos B. Al mismo tiempo las células T auxiliares al activarse ayudan a los linfocitos B a producir anticuerpo (Fig. 3). Otro factor importante es la catabolización del antígeno que disminuye su capacidad antigénica.

Figura 3

Inhibición por Retroalimentación



Regulación de la respuesta inmune: un modelo mínimo de controles por anticuerpo, por células y por catabolismo del antígeno.

CPA = célula presentadora de antígeno (célula adherente, i.e. macrófago)

TA = célula auxiliar (linfocito T)

B = linfocito B

TS = célula supresora (linfocito T)

EL CODIGO GENETICO

La información genética se encuentra en los ácidos nucleicos de las células. Los ácidos nucleicos son moléculas complejas compuestas por nucleótidos cada uno de los cuales está compuesto por una base nitrogenada, un azúcar y un fosfato. Las sustancias nitrogenadas se llaman purinas y pirimidinas. Las purinas son la adenina y la guanina y las pirimidinas son la citosina, la timina y el uracilo. Existen dos clases de ácidos nucleicos: uno contiene el azúcar ribosa y se llama ácido ribonucleico (ARN), el otro contiene deoxiribosa y se llama ácido deoxiribonucleico (ADN). El ARN se halla en el nucleolo y en el citoplasma y el ADN en los cromosomas. Ambas clases de ácidos nucleicos contienen citosina e idénticas clases de bases purínicas, pero mientras la timina se localiza en el ADN, el uracilo lo hace en el ARN

COMPONENTES DE LOS ACIDOS NUCLEICOS

Acido Nucléico	Fosfato	Azúcar	Bases	
ADN	+	Deoxi-ribosa	Purinas guanina adenina	Pirimidinas citosina timina
ARN	+	Ribosa	guanina adenina	citosina uracilo

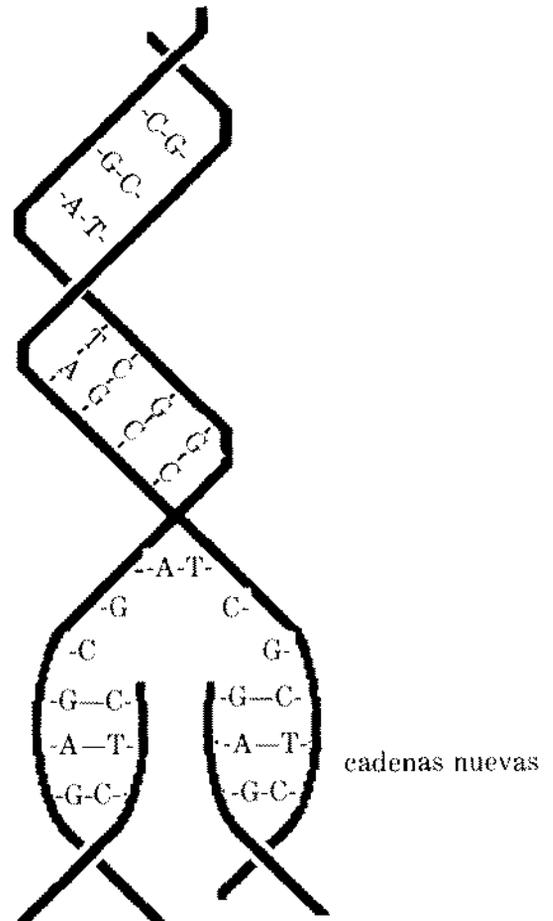
Los genes están compuestos por ADN, molécula que debe poseer una estructura variable y capaz de reproducirse. La molécula está formada por dos cadenas de nucleótidos unidas entre sí por puentes de hidrógeno entre las bases nitrogenadas. La conformación espacial es la de una hélice doble.

Las bases se unen ordenadamente por intermedio del hidrógeno: una purina siempre se enlaza con una pirimidina-guanina con citosina y adenina con timina. El ADN se transmite de una generación a otra porque cada cadena se separa y puede duplicarse en una cadena complementaria (Fig. 4).

La información genética se encuentra en el ADN en la forma de tripletes; tres bases codifican un aminoácido, constituyendo el Codón. La información guardada en el código se transmite del ADN a un tipo de ARN (el mensajero). El proceso por el cual la información es transmitida se conoce como transcripción, y la información del ARN se traslada a la síntesis de proteínas mediante un proceso llamado traducción (Fig. 5).

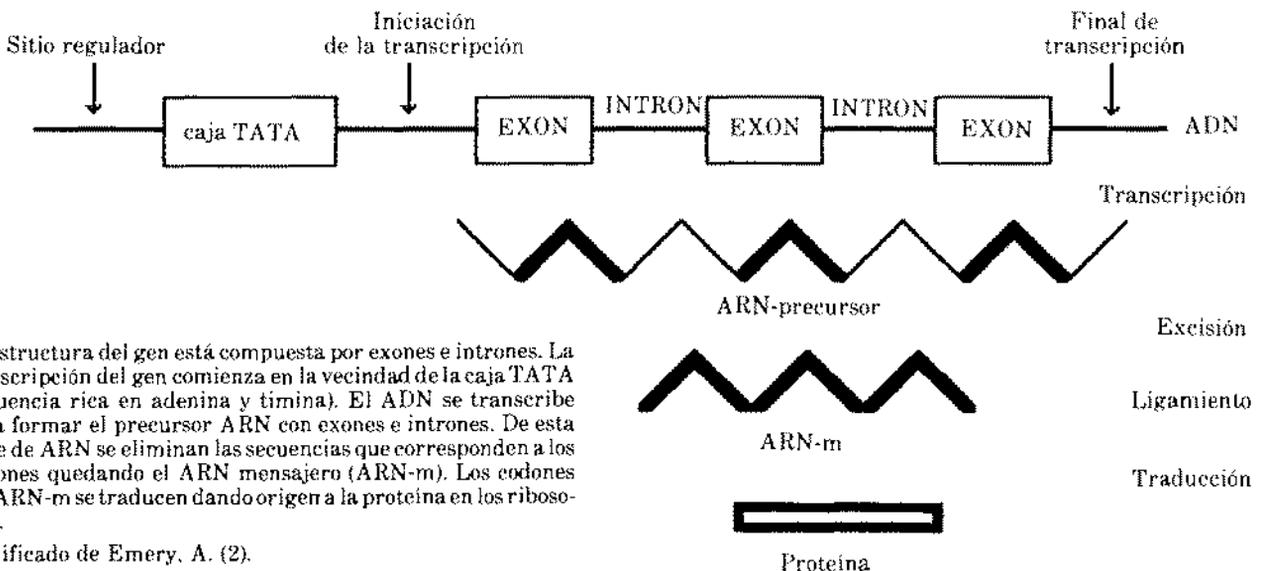
Sólo un 20% de la información contenida en el ADN humano se transcribe y sirve para sintetizar proteínas; el 80% restante lo constituye ADN repetitivo, además de secuencias no repetitivas, cuyo mensaje no se transcribe. Las secuencias de un gen que se transcriben se denominan exones; aquellas que a pesar de estar interpuestas entre los exones no codifican aminoácidos en la proteína, se denominan intrones. Durante la división nuclear las dos cadenas de ADN se separan y las bases complementarias forman una nueva cadena. De este modo cuando las células se dividen, la información genética se conserva y es transmitida sin cambio alguno a las células hijas. La información almacenada en el código del ADN va del gen a un tipo de ARN llamado mensajero. El ADN es complementario al ARN: citosina con guanina, adenina con uracilo. El ARN mensajero migra del núcleo al citoplasma donde se asocia con ribosomas formando una horma en donde los aminoácidos se alinean en secuencia. Estos aminoácidos son activados por el trifosfato de adenosina (ATP) agregado a cada ARN de transferencia (Fig. 6). Después, el ribosoma mueve el ARN uniendo a los aminoácidos para formar una cadena polipeptídica. El gen es pues un segmento de ADN que codifica la síntesis de una proteína funcional; este segmento, de longitud variable según el gen, se mide en kilo-bases o unidades de 1000 bases (nucleótidos).

Figura 4  
Cadenas del ADN



La molécula de ADN, compuesta de 2 cadenas de nucleótidos, la espalda de cada cadena está formada por las moléculas de azúcar y fosfato. Durante la replicación las 2 cadenas se separan de tal modo que cadenas complementarias se sintetizan.

Figura 5



La estructura del gen está compuesta por exones e intrones. La transcripción del gen comienza en la vecindad de la caja TATA (secuencia rica en adenina y timina). El ADN se transcribe para formar el precursor ARN con exones e intrones. De esta clase de ARN se eliminan las secuencias que corresponden a los intrones quedando el ARN mensajero (ARN-m). Los codones del ARN-m se traducen dando origen a la proteína en los ribosomas.

Modificado de Emery, A. (2).

Figura 6

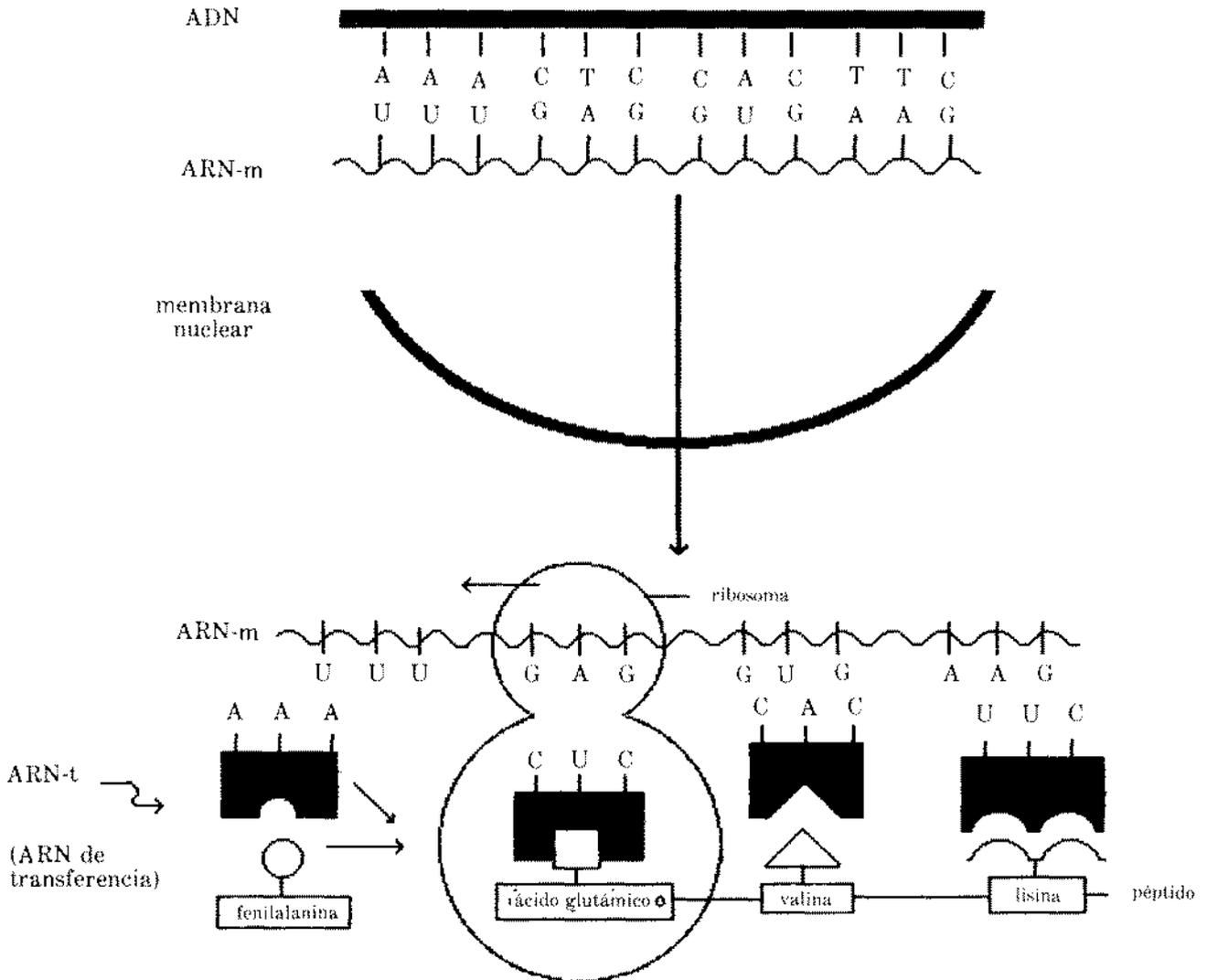


Diagrama que representa el modo como la información genética se traduce en síntesis de proteína.

## LA BIOLOGIA MOLECULAR: GENES RECOMBINANTES E INGENIERIA GENETICA

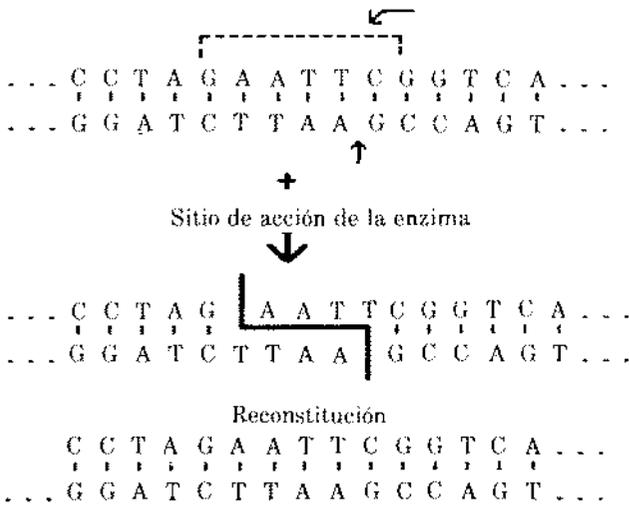
Existen varios aspectos de la biología molecular cuya definición es importante en nuestro resumen: variantes genéticas como las mutaciones, el aislamiento de genes, la técnica de Southern y la ingeniería genética.

Las *mutaciones* son los cambios del código genético resultantes de sustituciones de bases nucleotídicas del ADN que pueden producir errores en la traducción del gen a su proteína correspondiente. La secuencia de un gen puede cambiar sin que ello altere su funcionamiento o la estructura de la proteína a la cual codifica. Esto puede producirse por recombinación o por conversiones genéticas de secuencias de nucleótidos transferidas a distancias variables del cromosoma. Otras veces, el cambio en la secuencia del gen puede conducir a un defecto en la función que desencadene una enfermedad.

Los genes pueden *aislarse* con el uso de *sondas genéticas*. Estas sondas se obtienen mediante la introducción de un fragmento dado de ADN en un vector que puede reproducirse en bacterias; a este proceso se le denomina clonaje. El ADN "clonado" puede ser marcado, por ejemplo, con el fosfato radioactivo y ya que típicamente hibridiza con otro ácido nucleico complementario es posible reconocer el gen o su ausencia (*delección*) en un genoma determinado. Estas sondas pueden ser producidas con base en la secuencia de aminoácidos de su gen putativo el cual puede ser sintetizado con el uso de polimerasas. Toda esta revolución científica se basó principalmente en dos descubrimientos: las endonucleasas de restricción y la producción de vectores en donde se puede incorporar un segmento de ADN (plasmidos, fagos, etc.) y que puedan reproducirse o replicarse en bacterias. Las enzimas de restricción escinden el ADN (Fig. 7) en sitios especifi-

Figura 7

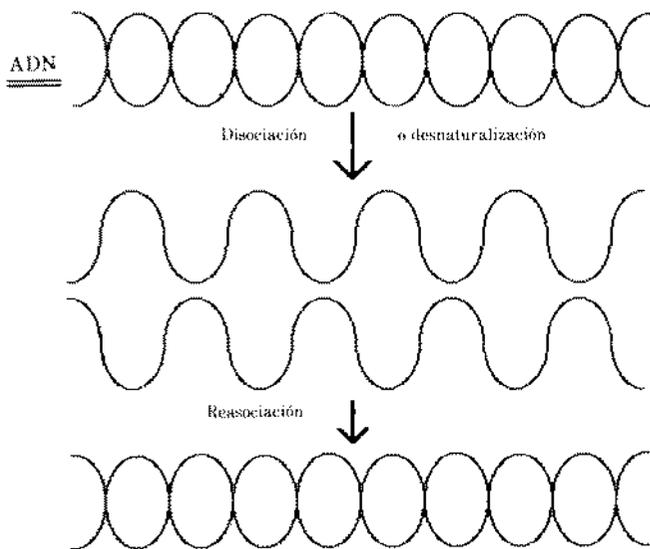
Sitio de reconocimiento de la enzima



cos. Las porciones del ADN resultante pueden ligarse a cualquier ADN, generando moléculas combinadas en las que una secuencia se añade a otra en el orden deseado, formando así una molécula de ADN "recombinante". Un vector que contenga toda la secuencia de nucleótidos de un gen puede ser utilizado en la producción de proteínas por bacterias, proceso denominado *ingeniería genética*. Se espera que esta forma de ingeniería se pueda usar en el futuro para el tratamiento de enfermedades secundarias a defectos genéticos.

El ADN existe en las células dizigóticas en cadena doble que puede disociarse aumentando la temperatura. Las dos cadenas pueden reasociarse si poseen secuencias nucleotídicas complementarias (Fig. 8).

Figura 8



En el caso del uso de enzimas de restricción se sabe que la enzima EcoRI, por ejemplo, reconoce una secuencia específica de cuatro nucleótidos AATC, localizados entre dos guaninas (Fig. 7). Cada vez que la enzima en-

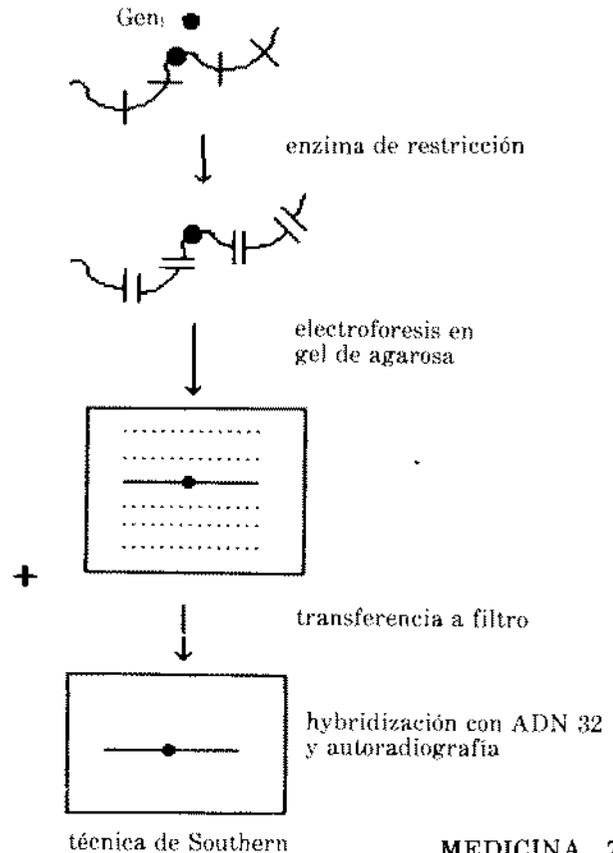
cuentra tal secuencia se fija a ella, y, rompiendo los enlaces entre guanina y adenina de cada cadena complementaria, genera dos fragmentos con extremos cohesivos y complementarios.

Dos cadenas de ADN cortadas con la misma enzima tienen, pues, los mismos extremos, lo que permite entonces ligar por ejemplo, un ADN humano a un ADN viral generando una molécula "recombinante". En el caso típico, un ADN humano se recombina con el ADN de un plásmido bacteriano. El plásmido recombinante se introduce en una bacteria, quien le servirá de "huésped" para su replicación.

La presencia en el plásmido de un gen de resistencia a un antibiótico le permitirá a la bacteria "huésped" sobrevivir en un medio de cultivo que, conteniendo el antibiótico dado, suprime el crecimiento de cualquier otra bacteria. Bacteria y plásmido recombinante se replican, y el resultado es una cantidad apreciable de ADN recombinante, que se puede aislar, e incluso separar una vez más del "vector" usando la enzima que permitió unirlos y estudiarlo.

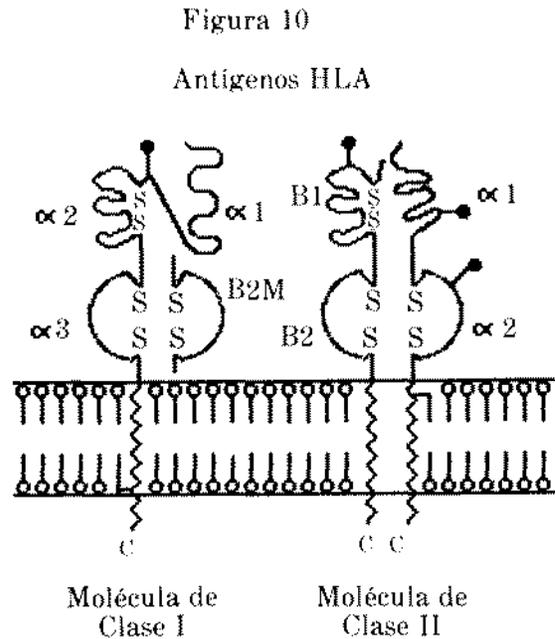
Las sondas se usan también para la identificación de polimorfismos al nivel de genoma. La técnica descubierta por Southern puede estudiar las variaciones de los genes (alelos) de diferentes loci. Las endonucleasas de restricción permiten fraccionar un gen en intrones o exones de tal modo que los sitios reconocidos por las enzimas pueden estar a diferentes distancias y por lo tanto las cadenas de ADN producen —de individuo en individuo— fragmentos de diferente longitud. A este fenómeno se le conoce como RFLP (restricción de fragmentos de longitud con polimorfismo) (Fig. 9).

Figura 9



## QUIMICA DE LOS ANTIGENOS HLA (CMH)

Los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad son de dos clases: I y II. Se trata de glicoproteínas formadas por dos cadenas cada una. Los antígenos de clase I están compuestos por una cadena pesada de 45,000 daltons que contiene carbohidratos y una pequeña (B2 microglobulina) de 12,000 daltons. La cadena pesada posee una porción intracelular, una transmembranosa y 3 regiones extracelulares llamadas  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$ . La región  $\alpha 3$  es la más cercana a la membrana celular y es constante (no es variable) entre individuos. En la región  $\alpha 3$  es donde existe gran variabilidad produciendo las diferencias entre individuos, fenómeno conocido como polimorfismo genético. Existen tres clases de cadenas pesadas codificadas por genes localizados en el brazo corto del cromosoma 6 humano: HLA-A, HLA-C y HLA-B. Estos antígenos se hallan en todas las células del cuerpo incluyendo las plaquetas (excepto el trofoblasto y otras células indiferenciadas). Por otro lado, los antígenos de clase II están compuestos por dos cadenas pesadas que contienen carbohidratos, una llamada  $\alpha$  de 34,000 daltons y una  $\beta$  de 29,000 daltons (Fig. 10). Ambas cadenas poseen una porción intracelular, una transmembranosa y dos regiones extracelulares  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ . De estas regiones, la  $\beta 2$  es la más variable y en ella se encuentran las diferencias que constituyen el polimorfismo de los antígenos de clase II también llamados HLA-D. Dentro de la región cromosómica del CMH existen 6 genes que codifican proteínas no reconocidas por las células T. Entre ellas existen 4 proteínas de la cascada del complemento C2, BF, C4B mientras que los otros 2 genes (21OH o gen de la hidroxilasa 21) controlan



Esquema de los antígenos de histocompatibilidad

la síntesis de una enzima de la glándula adrenal. Aunque estos genes no producen moléculas reconocidas por los receptores de las células T se llaman moléculas de clase III.

### POLIMORFISMO DE LOS GENES Y ANTIGENOS DEL CMH, (CLASE I y II), Y DE LOS GENES DE LA CLASE III

Algunas proteínas del individuo poseen porciones variables que pueden ser estudiadas genéticamente puesto que se expresan codominantemente en algunas células o en el plasma. Estos son ejemplos de polimorfismo genético. Si los cambios se analizan en proteínas (substituciones de aminoácidos) pueden ser estudiados por medio de diversos métodos que incluyen: a) métodos serológicos o inmunológicos b) por variabilidad en la carga eléctrica por electroenfoque o por migración en electroforesis o c) por células T específicas o clones. Si los cambios se estudian al nivel del ADN (substituciones de bases) se usa la técnica de diferencias de longitud de fragmentos de ADN usando endonucleasas de restricción conocida como la técnica de Southern.

Cualquiera que sea el método usado, las variantes se llaman alelos (Tabla I). En la mayoría de los individuos cada locus de los dos cromosomas posee 2 diferentes alelos debido al alto grado de polimorfismo del grupo de genes HLA o del complemento. Por lo tanto los individuos estudiados son más frecuentemente heterocigóti-

cos, aunque si un alelo se encuentra con mayor incidencia en la población, ocurre con relativa frecuencia el estado homocigótico. El locus que posee mayor polimorfismo es el HLA-B con más de 60 alelos. En la tabla I se observan los alelos conocidos en cada locus. La frecuencia de cada alelo HLA-A2 es el más frecuente en todas las razas, mientras que los alelos HLA-A1 y HLA-B8 son característicamente caucásicos.

Es importante recordar que el estudio más extenso del polimorfismo de los genes HLA se hizo usando anticuerpos que reaccionan con las partes variables de los antígenos de clase I y clase II. Los de la clase I en linfocitos de sangre periférica y los de la clase II usando solamente linfocitos B. Los alelos de las 4 proteínas del complemento se estudian en el plasma. No se sabe por qué existe un polimorfismo tan grande en los loci del CMH. Se cree que se debe a que las proteínas del CMH son importantes en la selección natural debido al papel que juegan en la respuesta inmune. Mayor información puede ser obtenida en otras publicaciones (3).

Tabla 1  
LISTA DE ALELOS DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD

HLA							
A	B		C	D	DR	DQ	DP
A1	B5	Bw4	Cw1	Dw1	DR1	DQw1	DPw1
A2	B7	Bw6	Cw2	Dw2	DR2	DQw2	DPw2
A3	B8		Cw3	Dw3	DR3	DQw3	DPw3
A9	B12		Cw4	Dw4	DR4		DPw4
A10	B13		Cw5	Dw5	DR5		DPw5
A11	B14		Cw6	Dw6	DR6		DPw6
Aw19	B15		Cw7	Dw7	DR7		
A23 (9)*	B16		Cw8	Dw8	DRw8		
A24 (9)	B17			Dw9	DRw9		
A25 (10)	B18			Dw10	DRw10		
A26 (10)	B21		Dw11 (w7)		DRw11 (5)		
A28	Bw22			Dw12	DRw12 (5)		
A29 (w19)	B27			Bw13	DRw13 (w6)		
A30 (w19)	B35		Dw14		DRw14 (w6)		
A31 (w19)	B37			Dw15			
A32 (w19)	B38 (16)			Dw16	DRw52		
Aw33 (w19)	B39 (16)		Dw17 (w7)		DRw53		
Aw34(10)	B40			Dw18 (w6)			
Aw36	Bw41			Dw19 (w6)			
Aw43	Bw42						
Aw66 (10)	Bw44 (12)						
Aw68 (28)	B45 (12)						
Aw69 (28)	Bw46						
	Bw47						
	Bw48						
	B49 (21)						
	Bw50 (21)						
	B51 (5)		Bw61 (40)				
	Bw52 (5)		Bw62 (15)				
	Bw53		Bw63 (15)				
	Bw54 (w22)		Bw64 (14)				
	Bw55 (w22)		Bw65 (14)				
	Bw56 (w22)		Bw67				
	Bw57 (17)		Bw70				
	Bw58 (17)		Bw71 (w70)				
	Bw59		Bw72 (w70)				
	Bw60 (40)		Bw73				

Leyenda de la Tabla 1: Los alelos de los loci HLA-A-C-B-DR y -DQ se identifican usando la prueba de linfocitotoxicidad con aloanticuerpos. Los alelos Dw y DP se identifican usando métodos de proliferación de linfocitos T.

### ASOCIACION NO ALEATORIA DE ALELOS DEL CMH Y DEL COMPLEMENTO: DESEQUILIBRIO DE ENLACE GENETICO

De acuerdo con la genética mendeliana, los genes se recombinan durante la división meiótica. Esto equivale a decir que, durante la meiosis, los cromosomas homólogos de cada gameto se alinean de tal modo que al separarse resultan diferentes combinaciones de alelos, como producto del entrecruzamiento del material genético. De ese modo, las variantes paterna y materna de un gen pueden entrecruzarse y la progenie hereda diferentes combinaciones de alelos. El hecho de que ciertos alelos de unos genes se encuentren siempre asociados con otros alelos específicos de genes vecinos a ellos se aparta de las leyes de la genética mendeliana, según la cual cada alelo debería encontrarse en la población asociado a otros alelos en razón inversamente proporcional a la distancia que los separa. Este es el caso de los genes del CMH y del

complemento localizados en el hombre en el brazo corto del cromosoma 6. Por razones desconocidas, estos genes, que ocupan una región no mayor de 4 unidades de recombinación (aprox. 4,000 kb de ADN) se presentan en la población en grupos de alelos asociados de una manera no aleatoria. Tal distribución de combinaciones específicas de alelos puede deberse a que la frecuencia de recombinaciones esté disminuida, o simplemente ser el resultado de mezclas recientes de poblaciones, en las que aún no se han presentado los suficientes eventos meióticos como para que se puedan observar recombinaciones. En cualquier caso, toda distribución anormal de un conjunto de alelos que se encuentre, con frecuencia constituye un desequilibrio de enlace. Esta clase de desequilibrio genético se ha descrito antes en el sistema Rh de los

eritrocitos y en los alelos de las inmunoglobulinas. Pero en la región del CMH es en donde se ha podido documentar un desequilibrio de enlace que se extiende por una distancia cromosómica relativamente grande. El estudio del desequilibrio de enlace se facilitó porque los alelos del C2, BF, C4A y C4B se heredan en grupo tan constante que no ha sido posible observar ni siquiera una sola recombinación. Las combinaciones de los cuatro alelos se encuentran muy fijas en la población de tal modo que el conjunto de los 4 alelos se puede estudiar como si fueran el producto de un solo locus. Nosotros hemos llamado a esta constelación de genes variables, complotipos. Por ejemplo, el complotipo C2C, BFS, C4B1 (en breve SC31) se diferencia de otro complotipo, FC31 solamente en el factor B (BF) porque en uno la variante es lenta en la electroforesis (S) y en el otro, es rápida (F). Si se estudia un individuo, uno describe el fenotipo: C2C, BFS, BFF, C4A3, C4B1, pero solamente después de estudiar a los padres se puede saber que el genotipo del individuo es SC31/FC31. En la tabla 2 se pueden ver varios complotipos con frecuencia variables. Obsérvese que existen alelos nulos que son denominados Q0 (cantidad 0). Por ejemplo, SC01 es producido por C2C, BFS, C4Q0 y C4B1. Los alelos nulos pueden ser debidos a deleciones genéticas o a falta de expresión de los genes (4, 5, 6).

Los alelos de la cadena pesada de los antígenos de clase I también muestran desequilibrio de enlace. Por ejemplo si una persona caucásica es HLA-A1, muy probablemente es HLA-B8 y estos loci se hallan a una distancia

de 1 unidad de recombinación. Además el alelo HLA-B8 se halla en desequilibrio de enlace con el alelo HLA-DR3 y DQW2. Como era de esperarse también los complotipos se encuentran en desequilibrio de enlace con los alelos de la clase I y de la clase II porque están localizados entre los dos loci (Fig. 11). La tabla 3 es la lista de los grupos de alelos asociados en desequilibrio de enlace. Nosotros llamamos haplotipos extendidos a estos grupos de alelos del mismo cromosoma que se encuentran en desequilibrio de enlace en la población. Cuando se conocen los dos haplotipos se conoce el genotipo. Por lo tanto el único modo de conocer el genotipo del individuo es estudiando la familia. El orden de los genes estudiados determina diferentes asociaciones en 2 haplotipos de cada individuo estudiado. Pero cuando esa asociación se halla con cierta frecuencia el grupo de genes asociados a ciertas distancias cromosómicas es de tal magnitud que dos individuos no relacionados por familia pueden ser considerados como si en el pasado hubiesen tenido un ancestro común en el caso de los haplotipos extendidos. Sin embargo, si se encuentran dos individuos cuyos haplotipos son idénticos pero la composición de ellos es aleatoria se puede asumir que existen porciones del ADN intercalado entre los marcadores estudiados que los diferencian. Este concepto está representado en la figura 11, en la que los marcadores de las tres clases de genes son conocidos. De acuerdo con este concepto, los alelos en desequilibrio de enlace de loci vecinos pueden predecir que la parte intercalada del cromosoma es idéntica aún en individuos no relacionados por vínculo familiar.

Tabla 2

COMPLOTIPOS COMUNES EN 643 CROMOSOMAS CAUCASICOS

Complotipo	Frecuencia	Complotipo	Frecuencia	Complotipo	Frecuencia
SC31	.389	SC02	.022	SC2(1,2)*	.008
SC01	.127	SC33	.020	F1C30	.006
FC31	.112	FC30	.026	S1C21	.006
SC30	.064	SC02	.022	SC32	.006
SC42	.050	SC33	.020	SC042	.006
SC61	.031	SB42	.016	SC11	.005
SC21	.028	FC01	.016	FC20	.005
FC30	.026	FC(3,2)0+	.008	SB31	.005

+ El locus C4A está duplicado

\* El locus C4B está duplicado

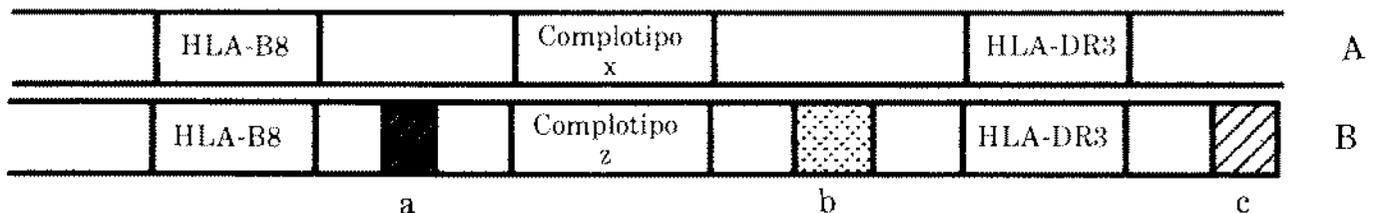
Tabla 3

Haplotipos extendidos entre caucásicos normales en Boston

Haplotipo*	Frecuencia
HLA-(A1), B8, DR3, SC01	.093
HLA-(A3), B7, DR2, SC31	.059
HLA-(A29), B12(44), DR7, FC31	.037
HLA-(A2), B12(44), DR4, SC30	.034
HLA-(A1), B17(57), DR7, SC61	.028
HLA-(A2), B40(61), DRw6, SC02	.011
HLA-(A2 or A3), B14, DR1, SC2(1,2)	.008
HLA-(A3), B35, DR1, FC(3,2)0	.008
HLA-(A25), B18, DR2, SC42	.008
HLA-(A26), B38, DR4, SC21	.005
HLA-(A30), B18, DR3, F1C30	.005

\* El alelo HLA-A más frecuente de cada haplotipo está escrito entre paréntesis.

Figura 11



Ejemplo de desequilibrio de enlace y su representación esquemática. Las regiones identificadas con rectángulos pertenecen a regiones reconocidas por marcadores HLA-B8, complotipo x y HLA-DR3 del cromosoma A de un individuo. Ellos existen en asociación no aleatoria. Si dos de los tres marcadores son iguales como en el cromosoma B la presencia de un complotipo diferente (z) puede predecir que otras regiones del cromosoma B (a,b,c) pertenecen a polimorfismos diferentes no identificados en el presente.

## CMH Y ENFERMEDAD

Existen asociaciones de enfermedades con el CMH (HLA), por ejemplo: espondilitis anquilosante, diabetes insulino-dependiente, miastenia grave, hiperplasia adrenal congénita y muchas más. Muchas enfermedades son autoinmunes como la artritis reumatoide, mientras que otras como la hemocromatosis no tiene ningún componente inmunológico en su patogenia.

La asociación mejor documentada de un alelo del CMH con una enfermedad es la del HLA-B27 en la espondilitis anquilosante. Al parecer, esta asociación implica la interacción entre el antígeno B27 y antígenos de bacterias como la *Klebsiella* (7, 8). Estos resultados favorecen la

hipótesis según la cual la reactividad cruzada de un antígeno HLA con uno bacteriano induce una respuesta inmune.

El mecanismo principal postulado para explicar las asociaciones del CMH con diversas enfermedades autoinmunes es la existencia de defectos en la habilidad del animal o del hombre para responder frente a antígenos patógenos. Por ejemplo, en la miastenia grave la asociación con el HLA-DR3 se debe a la capacidad de producir anticuerpos contra el receptor de la acetilcolina. En el ratón, la mutación de tres nucleótidos en un gen de la clase II revierte tal mecanismo de la enfermedad (4).

### EL HAPLOTIPO EXTENDIDO Y SU RELACION CON LA ASOCIACION DEL CMH CON ENFERMEDADES (4, 9-11)

Una de las grandes dificultades de este tipo de asociaciones es la falta de asociación absoluta entre una enfermedad con un alotipo determinado de genes de clase II. Por ejemplo, 30% de los enfermos con artritis reumatoide no expresan HLA-DR4. Por lo tanto, se dice que los mecanismos para explicar las asociaciones pueden ser varios.

Es posible, por ejemplo, que los productos de los genes de clase II del CMH no sean los genes de susceptibilidad sino que se encuentren vecinos a ellos. Esta posibilidad estimuló el uso de la técnica de Southern con hibridación del ADN. El empleo de este método ha permitido obtener mejores asociaciones, pese a no ser éstas absolutas. Otra posibilidad es que la enfermedad estudiada tenga múltiples etiologías entre las cuales una se deba a los alelos del CMH. Las técnicas moleculares permiten subclasificar los alelos conocidos hasta ahora. Específicamente, algunos haplotipos extendidos se usaron en el descubrimiento de asociaciones del CMH con enfermedades causadas por deleciones de genes únicos o con enfermedades autoinmunes. Por ejemplo, la deficiencia del factor C2 del complemento (en asociación con A25, B18, SCQ042) y la hiperplasia adrenal congénita por deficiencia de 21-hidroxilasa (asociación con B47, DR7, FC910) son producidas por genes recesivos que se encuentran raramente en la población.

En el caso de la diabetes mellitus insulino-dependiente, dos haplotipos extendidos del DR4 y dos del DR3 se

encuentran con frecuencia. Sin embargo, existen individuos con HLA-DR3 o DR4 que no son parte de haplotipos extendidos y que no tienen mayor riesgo de sufrir diabetes. Por otro lado, el haplotipo HLA-B44 DR7 SC31 está disminuido en los diabéticos. Estos hallazgos son consistentes con la interpretación según la cual la susceptibilidad está asociada con un haplotipo extendido y que los alelos que producen un haplotipo dado están aumentados en los pacientes. Si el haplotipo extendido no conlleva susceptibilidad genética, los alelos de este haplotipo estarán disminuidos en la población de pacientes y aparecerán como protectores; los individuos con dicho haplotipo tendrán, por lo tanto, un riesgo menor para sufrir esa enfermedad.

Un aspecto diferente en la relación CMH-enfermedad es aquel relacionado con el papel que juega el producto del CMH en la regulación de la magnitud y el tipo de respuesta inmune. Por ejemplo, la severidad de la coriomeningitis linfocitaria en el ratón —una infección de tipo viral— se relaciona con la producción de la respuesta inmune frente al virus (13). Los ratones que responden son susceptibles a la infección, y la respuesta se encuentra restringida por los productos del CMH de la clase I. De manera similar, es posible que la ausencia de una respuesta primaria de tipo inflamatorio frente a un agente dado, pueda beneficiar al huésped. En este aspecto la observación de que ciertos individuos no desarrollan una reacción aguda frente a la vacuna de la hepatitis B se relaciona con un incremento en la frecuencia de dos haplotipos extendidos (14).

### EL DESEQUILIBRIO DE ENLACE O LOS HAPLOTIPOS EXTENDIDOS EN LA ALOREACTIVIDAD

Nuestra hipótesis supone que los alelos de otros genes desconocidos, incluidos en la misma región cromosómica también sean idénticos entre individuos que presenten el mismo haplotipo extendido.

La mejor evidencia en favor de este concepto es el haber encontrado que los linfocitos mezclados "in vitro" no

producen proliferación en el 85% de los individuos con idénticos haplotipos extendidos (12).

Las moléculas del CMH de clase II son capaces de inducir la proliferación de las células T auxiliares. Esta proliferación se puede estudiar en el cultivo mixto de linfocitos (CML). En general, todas las mezclas de linfo-

citos producen proliferación a excepción de aquellas que corresponden a hermanos que heredan los mismos alelos del CMH. Esta respuesta frente a los antígenos de la clase II se denomina aloreactiva, y se estudia en el laboratorio clínico para buscar donantes de compatibles injertos, especialmente de médula ósea.

Los receptores de los linfocitos auxiliares T (A) pueden ser activados por las moléculas de clase II (alodeterminantes) sin requerir otros antígenos. Los alelos HLA-DR codificados por los genes DRB son los más importantes en la estimulación de los linfocitos, hecho importante en el caso del trasplante de médula ósea porque en el donante existen menos clases de células incluyendo linfocitos T inmunocompetentes. Tales linfocitos estimulados son capaces de reaccionar en contra del huésped produciendo una enfermedad llamada de injerto contra huésped. Esto se puede evitar con el uso de donantes que sean idénticos a nivel del CMH: hermanos idénticos genéticamente o personas no relacionadas en las que el CMH sea idéntico (lo que se puede obtener cuando los haplotipos extendidos son idénticos) (12).

*Resumen:* Esta revisión intenta introducir al médico en el campo de la biología molecular, la inmunología y la inmunogenética. El lector puede obtener más información en libros didácticos o especializados. Sin embargo, debe tener en cuenta que los antígenos de histocompati-

bilidad, cuya aplicación clínica más importante es la clasificación de tejidos para aloinjertos, han servido para realizar estudios biológicos básicos. Principalmente, han servido para comprender mejor las interacciones celulares que ocurren cuando el animal es expuesto a una sustancia extraña (antígeno). Existen varias clases de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, de estructuras variables las cuales constituyen sistemas genéticos polimórficos que sirven para identificar susceptibilidad a enfermedades, principalmente autoinmunes. Un aspecto importante de la investigación en nuestro laboratorio es el estudio del desequilibrio de enlace de genes. Esto es, el análisis de una asociación, que no ocurre al azar, de alelos del complejo mayor de histocompatibilidad. Este fenómeno sirve para estudiar genes desconocidos que se hallan entre los loci vecinos. En esas regiones podrían estar los genes de susceptibilidad a ciertas enfermedades, las cuales pueden también resultar de un cambio estructural en los productos de clase II del CMH.

**Agradecimientos:**

Expresamos nuestros agradecimientos a Ada Watson por su ayuda con el material gráfico, al Dr. Wolfgang Munar de la Universidad del Norte por sus sugerencias al texto, y a nuestra secretaria Judy Boyer. El trabajo de los autores se realiza bajo el auspicio del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Roitt, I., Brostoff, J. y Male, D.: *Immunology*. The C.V. Mosby Company. St. Louis, Toronto. Gower Medical Publishing-London, New York, 1985.
- (2) Emery, Alan, E.H.: *Elements of medical genetics*. Sexta edición. Churchill Livingstone. Edingburgh, London, Melbourne and New York, 1983.
- (3) Yunis, E.J. y Dupont, B.: *The HLA System*. In: Hematology of infancy and childhood. Nathan and Oski (eds.) Saunders, 1987.
- (4) Alper, C.A., Awdeh, Z.L. y Yunis, E.J.: *Complotypes, extended haplotypes, male segregation distortion y disease markers*. Human Immunology. 15:366-373, 1986.
- (5) Alper, C.A., Awdeh, Z.L., Raum, D.D., Fleischnick, E. y Yunis, E.J.: *Complement genes of the human major histocompatibility complex: implications for linkage disequilibrium and disease associations*. In: Immunogenetics, G.S. Panayi y C.S. David (eds.) Butterworths, London, pp. 50-91, 1984.
- (6) Yunis, E.J., Awdeh, Z., Raum, D., Yang, S.Y. y Alper, C.A.: *The MHC (Major Histocompatibility Complex) and disease*. In: Henry, J.B. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 17th Edition. Philadelphia, London: W.B. Saunders, pp. 806-821, 1984.
- (7) Geczy, A.F., et al.: *Characterization of a factor(s) present in klebsiella culture filtrates that specifically modifies an HLA-B27 associated cell-surface component*. J. Exp. Med. 152: 331-340, 1980.
- (8) Upfeld, L.I., et al.: *HLA-B27: Speculation on the nature of its involvement in ankylosing spondylitis*. Prog. Allergy 36: 117-189, 1985.
- (9) Alper, C.A., Fleischnick, E., Awdeh, Z., Raum, D., Crigler, J.F. Jr., Park, G.S., y Yunis, E.J.: *Extended MHC haplotypes in salt-losing 21-hydroxylase deficiency*. Annals of The New York Academy of Sciences. 28-35, 1985.
- (10) Raum, D., Awdeh, Z., Yunis, E.J., Alper, C.A., y Gabbay, K.H.: *Extended major histocompatibility complex haplotypes in type I diabetes mellitus*. J Clin Invest. 74: 449-454, 1984.
- (11) Alper, C.A., Fleischnick, E., Awdeh, Z.L., Katz, A.J. y Yunis, E.J.: *Extended major histocompatibility complex haplotypes in patients with gluten-sensitive enteropathy*. J. Clin. Invest. 79: 251-256, 1987.
- (12) Awdeh, Z.L., Eynon, E.E., Stein, R., Alper, C.A., Alosco, S.M., y Yunis, E.J.: *Unrelated individuals matched for MHC extended haplotypes and HLA-identical siblings show comparable responses in mixed lymphocyte culture*. Lancet 853-855, 1985.
- (13) Zinkernagel, R.M. y Doherty, P.C.: *MHC-restricted cytotoxic T cells: Studies on the biological role of the polymorphic major transplantation antigens determining T-cell restriction specificity, function and responsiveness*. Adv. Immunol. 27: 51, 1979.
- (14) Craven, D.E., et al.: *Nonresponsiveness to hepatitis B vaccine in health care workers*. Ann. Int. Med. 105: 356-360, 1986.