
GENES DEL COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD (CMH), EN LA MORTALIDAD INFANTIL; HIPÓTESIS. *MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX (MHC) GENES IN INFANTILE MORTALITY. HYPOTHESIS*

Edmond J. Yunis, MD¹, Julio Granados Montiel², Marcela Salazar, MD^{3,4},
Clarissa Granja, MD, PhD^{3,4}, María Yunis³ y Julio Granados Arriola, MD⁵

RESUMEN

El análisis del efecto de la raza (etnicidad) en la mortalidad infantil contradice la teoría genética y favorece mecanismos socioeconómicos. En este trabajo usamos la variabilidad genética, medida por los bloques genéticos HLA-DRB1*, DQB1*, de las células del cordón umbilical de un banco público en Ciudad de México, para plantear una hipótesis que sugiere la interacción entre esta variabilidad genética y la microbiota en un factor de riesgo para mortalidad infantil. La microbiota es un ecosistema que participa en la regulación de la respuesta inmune de los individuos, sin embargo, en estados de

desnutrición e infecciones no tratadas la alteración en la microbiota normal puede producir estados Pro-inflamatorio agudo y crónico que unidos a genes de susceptibilidad del (CMH) como los bloques HLA-DRB1*, DQB1* presentes en enfermedades autoinmunes puede causar mortalidad infantil.

En los países desarrollados, en los cuales puede disminuir el estado pro-inflamatorio debido a infecciones crónicas existe otro problema, la combinación de genes del CMH con otros genes se asocian con autoinmunidad (enfermedades poligénicas); susceptibilidad y mezcla genética contribuyen a la incidencia de auto-inmunidad. En el futuro es necesario mejorar la salud de la población

¹ Miembro honorario de la Academia Nacional de Medicina de Colombia. Profesor de Patología de la Escuela de Medicina de Harvard, Boston, MA.

² División de Inmunogenética, Dana Farber Cancer Institute, Boston, MA.

³ ADN Análisis LTDA. Bogotá.

⁴ Corporación CorpoGen, Bogotá.

⁵ Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Recibido: 07/09/2010. Aceptado: 09/11/2010.

total para producir un equilibrio de la microbiota sin destruir selectivamente porciones de ella.

Palabras clave: Bloques del CMH, mortalidad infantil, Microbiota, Autoinmunidad.

ABSTRACT

Studies analyzing the role of ethnicity in infantile mortality contradicted the genetic theory and favor the role of socioeconomic influences. In this work we used the genetic variability, measured by the differences in the frequency of the genetic block HLA-DRB1*, DQB1* in the cells of a public bank of umbilical cord to propose a hypothesis suggesting an interaction between these genetic variability and the microbiota as a risk factor in infantile mortality. The microbiota is an ecosystem, which participates in the regulation of immune responses. However, in malnutrition and untreated infections an alteration in the normal microbiota might produce acute or chronic pro-inflammatory states that together with susceptibility genes within the MHC, HLA-DRB1*, DQB1* present in autoimmune diseases can produce infantile mortality. In developed countries, in which there are less pro-inflammatory states during, the problem could be that the combination of genes within the MHC with other genes is associated with autoimmunity (polygenic diseases); genetic susceptibility together with the genetic admixture contribute to the incidence of autoimmunity. In the future, it is then necessary to improve health of the entire population to produce a balance of the microbiota without destroying selectively part of it.

Key words: MCH blocks, infantile mortality, microbiota, autoimmunity.

INTRODUCCIÓN

La evidencia epidemiológica sugiere que los factores socioeconómicos son más importantes que la genética en la mortalidad infantil (Collins, 2007; Semenza, 2010). Sin embargo, no existen estudios publicados que analicen los factores genéticos de la inmunidad en relación con la mortalidad infantil. A este respecto no se ha estudiado la posibilidad de que la mortalidad infantil, que es mayor en poblaciones con falta de acceso a sistemas de salud (pobreza), esté asociada a una combinación de factores genéticos unidos a funciones inmunitarias.

En este artículo comparamos un aspecto de diversidad genética medida por el uso de bloques genéticos del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). En este contexto, se ha determinado que estos bloques genéticos son más informativos que el análisis de alelos individuales para medir la diversidad genética, principalmente en Caucásicos, Africanos y Asiáticos en los Estados Unidos e Hispanos (especialmente Mexicanos) (Yunis, 2003; Yunis, 2005; Yunis 2005b). En el CMH existen haplotipos, porciones fijas del ADN que pueden medir hasta 3.2 Mb desde el locus *HLA-A* hasta el *HLA-DPB1*, conservados en las poblaciones. La región entre *HLA-Cw* y *HLA-DQB1*, de aproximadamente 1.5 Mb, compuesta por dos bloques el *HLA-Cw*, *HLA-B* y el *HLA-DRB1*, *HLA-DQ*, es la más estudiada especialmente en el mapeo de genética de enfermedades y repuesta inmune así como también para identificar la compatibilidad en alotrasplantes (Yunis, 2005a; Yunis, 2005b). Estos haplotipos también se emplean para definir el grado de diversidad genética de diferentes poblaciones. Por ejemplo, el estudio de tres diferentes grupos étnicos de los Estados Unidos demostró que la frecuencia agregada de bloques con frecuencia mayor del 1% tenía una mayor diversidad en la población de origen Africano que en la de origen

Asiático, mientras que los de origen Caucásico presentaban la menor diversidad genética (Yunis, 2005a; Yunis, 2005b). Es importante anotar que las frecuencias agregadas de los bloques HLA-Cw, HLA-B o del HLA-DRB1, HLA-DQ son mayores que las frecuencias del haplotipo conservado HLA-Cw, HLA-B, HLA-DRB1, HLA-DQ. En caucásicos, estas frecuencias son de 0.77, 0.53 y 0.35 respectivamente; en Afroamericanos 0.60, 0.48 y 0.11 y 0.66. 0.54 y 0.09 en Asiático Americanos. Los haplotipos conservados entre el locus HLA-A y HLADRB1 HLA-DQ tienen frecuencias de 0.15 en Caucásicos, 0.03 en Afroamericanos y 0.08 en Asiático Americanos (Yunis, 2005a; Yunis, 2005b).

En este estudio encontramos que la frecuencia de los bloques HLA-DRB1, DQB1 asociados con enfermedades autoinmunes en los Caucásicos está aumentada en las muestras de cordones umbilicales (CU) en relación con la población de adultos (CA), ambas muestras provenientes de la ciudad de México. Basados en este hallazgo proponemos que la genética de los cordones umbilicales puede representar a Mexicanos en su infancia. Es factible que las infecciones y la desnutrición (Hughes, 2009) modifiquen la microbiota y por ende, la respuesta inmune modulada por esta (Hughes, 2009; Tlaskalova-Hogenova, 2005; Chow, 2009; Chervonsky, 2010), en Mexicanos que heredan genes asociados a la autoinmunidad de poblaciones Caucásicas (Yunis, 2005a; Yunis, 2005b); produciendo un estado inflamatorio desequilibrado con aumento de la mortalidad infantil. Eso reflejaría la morbilidad de genes Caucásicos en relación a la pobreza.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos

Se estudiaron dos poblaciones provenientes de la Ciudad de México, constituidas por 138 individuos

adultos y 87 cordones umbilicales provenientes de madres atendidas en hospitales de asistencia pública del gobierno federal. Todos los individuos estudiados son descendientes de Mexicanos al igual que sus padres y abuelos quienes negaron tener ancestros en Europa, África o países Asiáticos. La sangre se coleccionó en tubos con EDTA al 2% y el DNA genómico se extrajo mediante la técnica de expulsión salina (Miller, 1998).

Tipificación de alelos de genes HLA. Amplificación de ADN genómico

Las regiones HLA-DQA1 y HLA-DQB1 se amplificaron mediante la técnica de reacción de polimerasa en cadena (PCR), los productos se hibridaron con sondas de oligonucleótidos específicos de secuencia. Los iniciadores utilizados para el locus HLA-DQ se sintetizaron en un equipo automático DNA-SM (Bekman, Palo Alto, CA, USA). Los protocolos utilizados siguen lineamientos aprobados durante el Décimo Segundo Taller Internacional de Histocompatibilidad.

Hibridación mediante la técnica de Dot blot

Cinco por ciento del amplificado de DNA se desnaturizó en hidróxido de sodio 0.4 mol/L durante 10 min, se neutralizó en acetato de amonio 1 mol/L y se transfirió a membranas de nylon tipo Hybond-N (Amersham, Bucks, UK). Los filtros se prehibridaron a 42°C durante 30 min en una solución que contiene 6× SSPE (30× SSPE: 4.5 mol/L NaCl, 0.3 mol/L NaH₂PO₄, 30 mmol/L EDTA, pH = 7.4), 5× solución Denhard (albúmina sérica bovina 2%, polyvinylpyrrolidone al 2% Ficoll 400 al 2%), Lauryl-sarcosine al 0.1%, y SDS al 0.02%. Posteriormente, las sondas de oligonucleótidos se marcaron con uridintrifosfato de digoxigenina (Dig-11-ddUTP), la reacción se efectuó a 42°C durante 3 h. Las membranas se lavaron dos

veces con 2× SSPE, y SDS al 0.1% a temperatura ambiente durante 10 min, otro lavado con solución TMAC [50 mmol/L Tris-HCl (pH = 8.0), 3 mol/L de cloruro de tetrametilamonio, EDTA 2 mmol/L SDS al 0.1%] a temperatura ambiente durante 10 minutos y dos lavados a 60°C durante 10 min. Los puntos de reacción positiva se revelaron con el Kit de detección de ácidos nucleicos (Boehringer Mannheim Biochemical, Mannheim, Alemania) (11).

Asignación de bloques y haplotipos

Usando las frecuencias alélicas que se muestran en la Tabla 1, y basados en publicaciones anteriores, se dedujeron los haplotipos conservados Cw, B y DRB1 y DQB1 en Caucásicos, Afroamericanos y Asiáticos Americanos (Yunis, 2003; Yunis 2005a). También se dedujo que si un individuo tiene un bloque Caucásico, Africano o Asiático los alelos restantes se clasificaron como Mejanos cuando 5 (0.01) o un mayor número de los haplotipos se pudieron identificar. Hay que anotar que en este reporte no determinamos el grado estadístico de las asociaciones al azar, Desequilibrio de Unión (LD), de los bloques de Cw, B y DRB1, DQ o de los haplotipos conservados y por lo tanto son hipotéticos.

Análisis estadístico

La diferencia de frecuencias de alelos, bloques y haplotipos entre las dos poblaciones fue calculada con tablas de contingencia de 2x2 y la prueba exacta de Fisher. El grado de significancia fue establecido como $p < 0.05$.

RESULTADOS

Frecuencia de alelos del CMH

La Tabla 1 lista los alelos del CMH (HLA-A, HLA-B, HLACw, HLA-BRB1, HLA-DQB1) y sus

frecuencias en ambos grupos. Como se evidencia en la tabla, no se encontraron diferencias significativas en la frecuencia o número de alelos entre las muestras de cordones umbilicales (CU) y muestras de adultos (AC).

Frecuencia de los bloques de ADN Cw*B*

Para el análisis, los bloques caucásicos fueron subdivididos en dos grupos: 1) Caucásico específicos y 2) Caucásicos compartidos por los otros dos grupos étnicos. La Tabla 2 muestra que las frecuencias de estos bloques en los dos grupos (CU y CA) son similares, aproximadamente de 0.2 en ambos. Tampoco se encontraron diferencias entre los dos grupos, en la frecuencia de los bloques atribuidos a mexicanos, con 0.4 de frecuencia en ambos grupos (Tabla 2).

Frecuencia de los bloques ADN HLA-DRB1, HLA-DQ

Al igual que en el análisis anterior, los bloques Caucásicos fueron subdivididos. En la Tabla 3 se muestran las frecuencias de los bloques (FAB) en los dos grupos. Encontramos que la frecuencia de bloques Caucásico específicos fue significativamente mayor en las muestras de CU 0.188 comparado con 0.073 en las muestras de AC $p=0.0003$. En contraste, los bloques mexicanos se encontraron aumentados en los AC, 0.58 comparado con 0.49 en los CU, $p=0.01$. Más relevante aún, fue el aumento en los bloques Caucásicos cuando se consideraron solamente aquellos bloques asociados con enfermedades autoinmunes: DRB1*0301, DQB1*0201; DRB1*1501, DQB1*0602; DRB1*0402, DQB1*0302; DRB1*0401, DQB1*0302; DRB1*0701, DQB1*0201; DRB1*0401, DQB1*0301 y DRB1*0302, DQB1*0402; frecuencia de 0.144 en CU y 0.050 en CA ($p<0.001$).

Tabla 1. Frecuencia de los alelos de HLA en las sangres de cordón (CU) y Mejicanos Adultos (CA)

HLA - A*			HLA - Cw*			HLA - B*			HLA - DRB1*			HLA - DQB1*		
Alelo	F CU	F CA	Alelo	F CU	F CA	Alelo	F CU	F CA	Alelo	F CU	F CA	Alelo	F CU	F CA
0201	0.22	0.25	0401	0.20	0.20	1501	0.07	0.03	0802	0.16	0.15	0302	0.28	0.32
2402	0.14	0.19	0702	0.17	0.24	3501	0.07	0.05	0407	0.13	0.19	0301	0.21	0.25
0206	0.11	0.06	0102	0.09	0.08	3905	0.06	0.10	1406	0.08	0.09	0402	0.16	0.16
3101	0.09	0.06	0701	0.07	0.06	4002	0.06	0.06	0301	0.07	0.03	0201	0.07	0.03
1101	0.05	0.01	0602	0.06	0.05	5101	0.05	0.03	0404	0.07	0.08	0501	0.06	0.10
6801	0.05	0.08	0303	0.05	0.03	5201	0.05	0.03	0701	0.06	0.07	0602	0.04	0.02
0101	0.04	0.04	0304	0.05	0.07	0801	0.05	0.02	1301	0.04	0.01	0603	0.04	0.02
6803	0.04	0.05	1203	0.04	0.01	3512	0.05	0.07	1602	0.04	0.05	0202	0.03	0.07
0301	0.03	0.02	1502	0.04	0.01	4801	0.05	0.04	1501	0.03	0.05	0601	0.03	0.02
2601	0.03	0.02	0305	0.03	0.01	3517	0.04	0.02	0102	0.03	0.01	0303	0.02	0.01
2902	0.03	0.01	0801	0.03	0.00	3906	0.03	0.05	1402	0.03	0.03	0401	0.01	0.00
3201	0.03	0.01	1509	0.03	0.01	0702	0.03	0.03	0403	0.02	0.03	0503	0.01	0.00
3001	0.02	0.01	0802	0.02	0.05	3801	0.03	0.00	0410	0.02	0.01	0502	0.00	0.00
6802	0.02	0.02	1202	0.02	0.01	1402	0.02	0.04	1101	0.01	0.00			
2301	0.01	0.03	1601	0.02	0.02	3514	0.02	0.03	1502	0.02	0.02			
2501	0.01	0.00	0202	0.02	0.02	4403	0.02	0.01	0402	0.02	0.01			
3301	0.01	0.03	0803	0.01	0.00	5001	0.02	0.01	0411	0.02	0.01			
3002	0.00	0.03	0501	0.01	0.02	3508	0.02	0.01	1302	0.01	0.00			
6805	0.00	0.02	0306	0.00	0.02	4402	0.02	0.02	0101	0.01	0.02			
0202	0.00	0.01	1701	0.00	0.01	1302	0.02	0.01	0401	0.01	0.00			
						1530	0.02	0.00	0405	0.01	0.02			
						4101	0.01	0.01	1104	0.01	0.03			
						1515	0.01	0.03	1101	0.01	0.00			
						1801	0.01	0.01	1202	0.01	0.00			
						2705	0.01	0.01	1305	0.01	0.00			
						3503	0.01	0.01	1001	0.00	0.03			
						3908	0.01	0.02	1301	0.00	0.01			
						3902	0.01	0.02						
						4006	0.01	0.00						
						4011	0.01	0.00						
						4501	0.01	0.02						
						5301	0.00	0.02						
						4005	0.00	0.02						

Tabla 2. Frecuencia de bloques de ADN Cw B

	CU n =174				CA n = 272		p
	Cw*	B*	#	F	#	F	
Caucásicos (Específicos)	0702	0702	5	0.029	8	0.029	NS
	0701	0801	8	0.046	6	0.022	
	0802	1402	3	0.017	8	0.029	
	1203	3801	5	0.029	1	0.004	
	0602	5001	4	0.023	4	0.014	
	0501	4402	0	0.000	2	0.008	
	0304	4001	0	0.000	2	0.008	
	1701	4101	0	0.000	3	0.011	
	0401	3503	1	0.006	1	0.004	
	0602	5701	1	0.006	1	0.004	
	1601	4403	1	0.006	1	0.004	
		Total	28	0.153	37	0.134	
	Caucásicos presentes en otras poblaciones	0401	3501	7	0.040	8	
0102		2705	2	0.011	1	0.004	
1502		5101	3	0.023	1	0.004	
0303		5501	1	0.006	0	0.000	
0501		1801	1	0.006	3	0.011	
0602		1302	2	0.011	2	0.008	
0401		4403	1	0.006	0	0.000	
0704		4402	0	0.000	2	0.008	
		Total	17	0.099	17	0.061	
Africanos		0401	5301	1	0.006	3	0.014
	0701	4901	0	0.000	2	0.011	
	1601	4501	0	0.000	1	0.004	
	0602	4501	2	0.011	4	0.016	
	1701	4201	1	0.006	0	0.000	
	0602	5802	0	0.000	1	0.004	
	1801	8101	1	0.006	0	0.000	
	0202	1503	0	0.000	1	0.004	
	0304	1510	0	0.000	3	0.014	
	1402	1516	0	0.000	2	0.011	
		Total	5	0.029	17	0.061	
Asiáticos	0801	4801	4	0.023	7	0.033	NS
	0304	4002	2	0.011	5	0.018	
	0302	5801	0	0.000	1	0.008	
		Total	6	0.034	13	0.047	
Mexicanos	0702	3905	11	0.063	29	0.100	NS
	0401	3512	6	0.034	14	0.064	
	0401	3517	7	0.040	7	0.022	
	0702	3906	6	0.034	14	0.049	
	0102	1501	7	0.040	5	0.019	
	0401	3514	4	0.023	8	0.029	
	0303	5201	4	0.023	5	0.018	
	0102	1515	2	0.011	7	0.022	
	0305	4002	4	0.023	4	0.016	
	0702	3908	1	0.006	5	0.018	
	0701	4101	3	0.017	1	0.004	
	1509	5101	2	0.017	2	0.011	
	0102	1530	3	0.017	2	0.011	
	4004	0304	2	0.011	3	0.014	
	0306	4002	0	0.000	5	0.019	
	0102	3543	1	0.006	4	0.016	
	0304	4005	0	0.000	3	0.014	
		Total	63	0.356	118	0.426	

Haplotipos conservados HLA-Cw, HLA-B, HLADRB1, HLA-DQ

Al analizar la distribución de los haplotipos conservados o extendidos, encontramos que los haplotipos conocidos en Caucásicos tuvieron una alta frecuencia en CU (0.10) en contraste con una muy baja frecuencia (0.025) en CA ($p < 0.001$). Solo 14 de los haplotipos del total de 450 analizados se extendieron hasta el locus A; 5 del grupo 1 hasta el A*0101, 3 del grupo 3 hasta el *2601, dos del grupo 4 hasta el *2902, 4 del grupo 5 hasta el *3002 de los Caucásicos. También, el haplotipo Africano se extiende hacia el *3001 (no mostrados en la Tabla 4).

Los haplotipos Mexicanos que se muestran en la Tabla 4 son hipotéticos porque para confirmarse se requiere del cálculo de valores de desequilibrio de unión (LD). La frecuencia de estos haplotipos fue similar en los dos grupos (0.25 para CU vs 0.30 para CA). Los 5 primeros de los haplotipos Mexicanos en la lista tienen una frecuencia mayor del 2%. Es de resaltar que cuatro de los haplotipos en la lista, identificados con los números del 1 al 4 se extienden hasta el locus A. El primero hasta *6803 en 21 casos, el 2 hasta el *0201 en 12 casos, el 3 hasta el *2402 en 9 casos y el 4 hasta el *0206 en cinco de ellos (se contaron en ambos CU y CA).

Es importante anotar que la frecuencia de haplotipos extendidos, resultado de mezclas de Mexicanos con Caucásicos, Africanos o Asiáticos es de 15% en la población adulta y del 9% en los AC (datos no publicados). Esto indica que en el mestizaje, la frecuencia de haplotipos extendidos mestizos (combinación de dos bloques) es menor que los haplotipos Mexicanos.

DISCUSIÓN

Estudios previos, basados en observaciones epidemiológicas, han propuesto que las infecciones en la infancia pueden tener un efecto posterior en

Tabla 3. Frecuencia de bloques de DRB1 y DQB1

	CU n = 174				CA n = 276		p
	DRB1	DQB1	#	F	#	F	
Caucásicos (Específicos)	0301	0201	10	0.052	6	0.025	0.0003
	1501	0602	6	0.034	5	0.018	
	1301	0603	6	0.034	3	0.010	
	0402	0302	3	0.017	3	0.010	
	0701	0303	2	0.011	3	0.010	
	0401	0302	2	0.011	0	0.000	
	0701	0201	2	0.011	0	0.000	
	0401	0301	1	0.006	0	0.000	
	0302	0402	1	0.006	0	0.000	
	Total		33	0.182	20	0.073	
Caucásicos presentes en otras poblaciones	0701	0202	6	0.034	15	0.054	NS
	0101	0501	2	0.010	5	0.018	
	1101	0301	1	0.006	2	0.007	
	1302	0604	2	0.011	1	0.004	
	1401	0503	1	0.006	1	0.004	
	1104	0301	2	0.011	5	0.018	
Total		14	0.080	29	0.105		
Africanos	0102	0501	3	0.017	11	0.039	
	1001	0501	1	0.006	6	0.021	
	Total		4	0.023	17	0.061	
Asiáticos	0403	0302	4	0.023	5	0.018	NS
	1502	0601	3	0.017	4	0.014	
	1202	0301	3	0.017	0	0.000	
	Total		10	0.057	9	0.032	
Mexicanos	0407	0302	22	0.125	49	0.177	0.03
	0802	0402	24	0.136	38	0.140	
	1406	0301	13	0.069	26	0.094	
	0404	0302	12	0.068	21	0.080	
	1602	0301	6	0.034	14	0.051	
	1402	0301	5	0.029	7	0.025	
	0411	0302	3	0.017	3	0.010	
	0405	0202	1	0.006	4	0.014	
	Total		84	0.49	162	0.58	

Tabla 4. Frecuencia de haplotipos extendidos y conservados de CMH en las poblaciones Mexicanas

Haplotipo						CU	CA
	Grupo	HLA-Cw*	HLA-B*	HLA-DRB1*	HLA-DQB1*	n=174	n=276
Caucásicos Americanos	1	0701	0801	0301	0201	7	1
	2	0802	1402	0102	0501	3	0
	3	1203	3801	0402	0302	2	0
	4	1601	4403	0701	0202	2	2
	5	0702	0702	1501	0602	1	3
	6	0501	1801	0301	0201	1	2
	7	0602	5701	0701	0303	1	1
	8	0602	5001	0701	0201	1	2
	9	0401	3501	0101	0501	0	1
	10	0602	5001	0701	0201	1	2
	11	0602	1302	0702	0702	1	1
Total Frecuencia*						20 0.115	15 0.054
Afro Americanos		1701	4201	0302	0402	1	0
Mexicanos	1	0702	3905	0407	0302	9	25
	2	0401	3512	0802	0402	6	11
	3	0702	3906	1406	0301	3	8
	4	0401	3517	0802	0402	5	6
	5	0102	1501	0802	0402	3	1
	6	0401	3514	1602	0301	3	8
	7	0305	4002	0407	0302	3	2
	8	0102	1501	0407	0302	1	3
	9	0303	5201	1406	0301	2	4
	10	0401	3512	0407	0302	1	3
	11	0702	3908	0407	0302	1	4
	12	0102	1515	0802	0402	2	2
13	1801	4801	0402	0302	1	2	
Total Frecuencia						41 0.235	79 0.286

Los grupos de Caucásicos Americanos y de Africanos americanos se basan en haplotipos conocidos de esas etnias

Los haplotipos en mexicanos son hipotéticos.

* p < 0.001

la vida de los adultos (Tlaskalová-Hogenová, 2004). También es claro que las acciones de salud pública y las intervenciones médicas disminuyen las infecciones y por ende la mortalidad en poblaciones con acceso a estos servicios (Gurven, 2008). Sin embargo, no ha sido posible determinar claramente la influencia de factores genéticos en relación con la mortalidad infantil secundaria e infecciones (Gluckman, 2004; Finch, 2004). Un reporte que soporta nuestra hipótesis mostró que la variante genética HLA-B7 es marcador de susceptibilidad para la fiebre tifoidea y la fiebre amarilla en la población de origen holandesa de Surinam (De Vries, 1979). Esto puede explicar porque los bloques HLA-Cw*0702, B*0702 y HLA-DRB1*1501, DQB1*0602 disminuyeron en frecuencia en Surinam después de estas epidemias. De esta forma, las infecciones podrían influir en la selección natural de marcadores genéticos en la población. Por ejemplo, aunque en este trabajo no se estudió una población infantil, creemos que los cordones umbilicales de un banco público de México pueden representar una población infantil de bajos recursos. Usando los bloques de ADN del CMH para definir el grado de mestizaje de los Mexicanos (Yunis, 2003, Yunis 2005a) encontramos diferencias en las frecuencias de los diferentes bloques entre las dos poblaciones. En particular, con respecto al DRB1*, DQB1* la frecuencia de los bloques Caucásicos en cordones umbilicales (CU) fue significativamente más alta que en los adultos (CA). Es importante anotar que el exceso de representación de este bloque en los CU se debió a que los bloques (DRB1*0301, DQB1*0201; DRB1*01501, DQB1*0602; DRB1*0402, DQB1*0302; DRB1*0401, DQB1*0302; DRB1*0701, DQB1*0201; DRB1*0401, DQB1*0301 y DRB1*0302, DQB1*0402) se encuentran aumentados en enfermedades autoinmunes como diabetes mellitus tipo-I, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, hipertiroidismo y enfermedad celiaca (Yunis, 2005a; Yunis, 2005b; 16; Invernizzi, 2009). Además, la artritis reumatoide y el pénfigo vulgar en mexicanos se asocian con HLA-DRB1*0404, el cual

está representado igualmente en adultos (0.08) que en CU (0.069) (Yunis, 2005a, Invernizzi, 2009). En contraste, la frecuencia de bloques Mexicanos fue mayor en las muestras de adultos que de cordones umbilicales. También consideramos que en la población mestiza mexicana, la frecuencia de haplotipos extendidos mexicanos fue mayor que la frecuencia de haplotipos mestizos (combinación de un bloque de mexicanos con un bloque de una etnia diferente, principalmente de Caucasicos). Estos hallazgos sugieren que las infecciones no tratadas adecuadamente en poblaciones de bajos recursos, con limitado acceso a sistemas de salud, pueden modular la respuesta inmune hacia un estado proinflamatorio. La modulación de la respuesta inmune asociada a alteraciones de la microbiota normal podrían causar tormentas de citoquinas, inflamación y contribuir en la mortalidad (Trifonov, 2009; WHO, 2010). De esta manera, nuestra hipótesis para el estado proinflamatorio requiere de una interacción entre la respuesta inmune, los genes del CMH y la microbiota.

Hipótesis: Mecanismo inmunitario en infecciones por genes del CMH y la microbiota en la pro-inflamación.

El periodo neonatal es crítico para la colonización del intestino y puede ser afectado por muchos factores incluyendo la edad de gestación, el ambiente al nacer, la nutrición y el uso de antibióticos (Hughes, 2009; Chow, 2009). La microbiota intestinal es la comunidad de microorganismos que participan del metabolismo intestinal y desarrollo de la inmunidad, diferenciación de células T e inflamación (Tlaskalova-Hogenova, 2005; Chow, 2009; Slack, 2009). La microbiota es regulada durante la infancia y cambios en esa población bacteriana durante el desarrollo del individuo puede modificar la intensidad de infecciones, la inflamación y, en la edad adulta, puede facilitar el desarrollo de las enfermedades autoinmunes (Invernizzi, 2009). Como esas enfermedades poligénicas tienen un componente del CMH,

debemos considerar el papel de las mezclas genéticas en el desarrollo de las mismas (Awdeh, 2006; Granados, 1996; Molokhi, 2000). La participación de infecciones en el desarrollo de autoinmunidad ha sido demostrada en el modelo murino F1(NZBxNZW) que desarrolla lupus. Al ser mantenidos en ambiente con menos gérmenes, se reduce la incidencia de lupus (Howie, 1968). Otros estudios han mostrado que las infecciones con helmintos, lactobacilo, bifidobacterias y bacterias saprofitas pueden inhibir la autoinmunidad (Mulder, 2009).

En la respuesta inmune contra agentes infecciosos participan tanto mecanismos innatos como adquiridos (Chow, 2009; Fuji, 2004; Rub, 2009). Por ejemplo, las células como macrófagos, después de fagocitar los patógenos, presentan los péptidos mediante las moléculas del CMH a las células T CD4+ (Th1) que producen IL-12 y diversas otras citocinas como IFN- γ , también producida por células asesinas naturales (NK). La respuesta proinflamatoria Th1 se observa primordialmente en infecciones virales y por otros patógenos intracelulares. Las células T CD4+ Th2 o son productoras de IL-4, IL-5 e IL-13 y son importantes en el control de infecciones extracelulares (bacterias y parásitos), mientras que las células Th17 producen IL-17, IL-21 y/o IL-22 y controlan infecciones extracelulares (hongos y bacterias). Por otro lado, las células T reguladoras (Tregs), productoras de IL-10 y TGF- β , participan de la respuesta a esos patógenos mediante su acción anti-inflamatoria (Okada, 2010; Zelate, 2009; Awasthi, 2009; Ivanov, 2008; Calcinaro 2005; Torchinsky, 2009; Kastelein, 2007). La microbiota también interactúa con células Th17 del intestino y con las Tregs a través de factores de transcripción RoR γ t y FoxP3, respectivamente (Chow, 2009). Sin embargo, no se conoce la participación de la microbiota en el estado proinflamatorio acentuado, ni el papel de la IL-27 en relación al grado de proinflamación, aunque se sabe que IL-27 reduce el

número de células T regs (Kastelein, 2007). Consideramos que las investigaciones futuras que evalúen el grado de inflamación, demostrarán cambios en la capacidad funcional de las células Tregs y en las células Th17 (Chow, 2009) así como la relevancia de la sobreproducción de IL-12 e IL-27 en individuos con alteraciones del equilibrio de microbiota, especialmente a aquellos que poseen genes del CMH (clase II) de susceptibilidad a enfermedades autoinmunes.

AGRADECIMIENTOS

El estudio fue apoyado por el Departamento de Cancer immunology and AIDS del Dana Farber Cancer Institute y por una donación del Dr. Julio Granados.

El contenido de este artículo fue presentado en gran parte durante el Congreso Médico “Bicentenario de la Independencia de Colombia”, Academia Nacional de Medicina y Asociación de Médicos Colombianos en Estados Unidos-USMA 30 años.

REFERENCIAS

1. Awasthi A, Kuchroo VK. Th17 cells: from precursors to players in inflammation and infection. *International Immunology*. 2009; 21; 489-98.
2. Awdeh ZL, Yunis EJ, Audeh MJ, Fici D, Pugliese A, Larsen CE et al., A genetic explanation for the rising incidence of type 1 diabetes, a polygenic disease. *Journal of Autoimmunity*. 2006; 27:174-180.
3. Calcinaro F, Dionisi S, Marinaro M, Candeloro P, Bonato V, Marzottiet S, et al., Oral probiotic administration induces IL-10 production and prevents spontaneous autoimmune diabetes in the NOD Mouse. *Diabetologia* 2005; 48: 1565-1575.
4. Cantú de León D, Pérez-Montiel D, Villavicencio V, García Carranca A, Mohar Betancourt A, Acuña-Alonzo V, et al., High resolution human leukocyte antigen (HLA) class I and class II allele typing in Mexican mestizo women with sporadic breast cancer: case-control study. *BMC Cancer*. 2009; 9:48.
5. Collins D and Collins J. Maternal and infant health in diverse settings. *American Journal of Public Health*. 2007; 97; 1191-1197.

6. Chervonsky AV. Influence of microbial environment on autoimmunity. *Nature Immunology* 2010; 11: 28-35.
7. Chow J and Sarkis MK. Getting the Bugs out of the Immune System: Do Bacterial Microbiota "Fix" Intestinal T Cell Responses? *Cell Host & Microbe*. 2009; 51: 8-12.
8. Hughes SM, Amadi B, Mwiya M, Nkamba H, Tomkins A, Goldblatt D. Dendritic cell anergy results from endotoxemia in severe malnutrition, *Journal of Immunology*. 2009; 183: 2818-26.
9. De Vries RR, Meera P Khan P, Bernini LFE, van Loghem F, Van Rood JJ. Genetic control of survival in epidemics. *International Journal of Immunogenetics*. 1979; 6: 271-287.
10. Finch CE, Crimmins EM. Inflammatory exposure and historical changes in human life-Spans. *Science*. 2004; 305: 1736-1739.
11. Fujii S, Liu K, Smith C, Bonito AJ, Steinman RM. The linkage of innate to adaptive immunity via maturing dendritic cells in vivo requires CD40 ligation in addition to antigen presentation and CD80/86 costimulation. *Journal of Experimental Medicine*. 2004; 199: 1607-18.
12. Gluckman PD, Hanson MA. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science*. 2004; 305: 1733-173.
13. Granados J, Vargas-Alarcon G, Andrade F, Melin-Aldana H, Alcocer-Varela J, Alarcon de Segovia D. The role of HLA-DR alleles and complotypes through the ethnic barrier of systemic lupus erythematosus in Mexicans. *Lupus*. 1996; 5:184-189.
14. Gurven M, Kaplan HW, Finch CE, Crimmins EM. Aging and Inflammation in Two Epidemiological Worlds, *Journal of Gerontology: Medical Sciences*. 2008; 63A. 000-000.
15. Howie JB, Helyer BJ. The immunology and pathology of NZB mice. *Advances in Immunology*. 1968; 9:215-266.
16. Invernizzi P, Gershwin ME. The genetics of human autoimmune disease. *Journal of Autoimmunity*. 2009; 33: 290-299.
17. Ivanov II, Frutos R, Manel N, Yoshinaga K, Rifkin DB, Balfour Sartor, *et al.*, Specific microbiota direct the differentiation of IL-17 producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe*. 2008; 4: 337-349.
18. Kastelein RA, Hunter CA, Cua DJ. Discovery and biology of IL- 23 and IL-27: Related but functionally distinct regulators of inflammation. *Annual Reviews of Immunology*. 2007; 25: 221-42.
19. Miller SA, Dykes DD, Polensky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 1998; 11: 12-15.
20. Molokhi M, McKeigue P. Risk for rheumatic disease in relation to ethnicity and admixture. *Arthritis Research*. 2000; 2:115-125.
21. Mulder IE, Schmidt B, Stokes CR, Lewis M, Bailey M, Aminov RI, *et al.*, Environmentally-acquired bacteria influence microbial diversity and natural innate immune responses at gut surfaces. *BMC Biology*. 2009; 7:79.
22. Okada H, Khun C, Fellet H, Bach JF. The hygiene hypothesis and allergic diseases: an updte. *Clinical and Experimental Immunology*. 2010; 160: 1-9.
23. Rub A, Dey R, Jadhav M, Kamat R, Chakkaramakkil S, Majumdar S *et al.*, Cholesterol depletion associated with Leishmania major infection alters macrophage CD40 signalosome composition and effector function. *Nature Immunology*. 1009; 10: 273-280.
24. Semenza JC. Strategies to intervene on social determinants of infectious diseases. *Euro Surveill*. 2010; 15: 19611 <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle>.
25. Slack E, Hapfelmeier S, Stecher S, Velykoredko Y, Stoel M, Lawson ME, *et al.*, Innate and adaptive immunity cooperate flexibly to maintain host-microbiota mutualism. *Science*. 2009; 325: 617-620.
26. Tlaskalová-Hogenová H, Stepánková R, Hudcovic T, Tucková L, Cukrowska B, Lodinová-Zádníková R, *et al.*, Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. *Immunology Letters* 2004; 93:97-108.
27. Tlaskalova-Hogenova H, Tuckova L, Mestecky J, Kolinskaz J, Rossmann P, Stepankova R *et al.*, Interaction of mucosal microbiota with the innate immune system. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2005; 62 (Suppl. 1): 106-113.
28. Torchinsky MB, Johan G, Andrea MP, Magarian BJ. Innate immunity recogniton of infected apoptotic cells directs TH17 cell differentiation. *Nature*. 2009; 458: 78-82.
29. Trifonov V, Khiabani H, Rabadan R. Geographic Dependence, Surveillance, and Origins of the 2009 Influenza A (H1N1) Virus. *New England Journal of Medicine*. 2009; 61:115-119.
30. Writing Committee of the WHO Consultation on Clinical Aspects of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza *Clinical Aspects of Pandemic 2009 Influenza A (H1N1) Virus Infection*. World Health Organization New England Journal of Medicine. 2010; 1708-19.
31. Yunis EJ, Larsen CE, Fernandez-Viña M, Awdeh ZL, Romero T, Hansen JA *et al.*, Inheritable variable sizes of DNA stretches in the human MHC: conserved extended haplotypes and their fragments or blocks. *Tissue Antigens*. 2003; 62: 1-20.
32. Yunis EJ, Larsen CE, Fernandez-Viña M, Awdeh ZL, Cao K, Romero T, Alper CA, Hansen JA. Human MHC haplotypes and their fragments or blocks. In: *Proceedings of the 13th International Histocompatibility Workshop*. Oxford: Blackwell Munksgaard. 2005a.
33. Yunis EJ, Zuniga J, Larsen CE, Fernandez-Vina M, Granados J, Awdeh ZL, Alper CA. Single nucleotide polymorphism blocks and haplotypes: human MHC block diversity. In *Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine. Volume 13*. Meyers RA. Weinheim: Wiley-VCH. 191-215. 2005b.
34. Zelate T, De Luca A, D'Angelo C, Moretti S, Romani L. Th17 in host defense. *European Journal of Immunology*. 2009; 39: 634-675.