

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad

Un grupo de genes candidatos para seleccionar animales por resistencia genética a enfermedades.

Iglesias¹, Gabriela Marisa. Med. Vet., M Sc. (Jefa de Trabajos Prácticos del Área de Genética).

Huguet¹, Miguel Javier. Vet. (Ayudante de Primera del Área de Genética).

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias. UBA.

Correspondencia a gabyigl@fibertel.com.ar ; gigles@fvet.uba.ar

INTRODUCCIÓN

¿Qué es y qué función cumple el Complejo Mayor de Histocompatibilidad?

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) o MHC en inglés, es un conjunto de genes cuya importancia en la resistencia genética a ciertas infecciones por virus o bacterias de los animales es fundamental, por el rol que cumplen las moléculas que estos genes codifican. Las moléculas del CMH, son de Clase I y clase II, y son las encargadas de presentarles a los Linfocitos T (principales células de la respuesta inmune) los antígenos o pequeños fragmentos de bacterias, virus y/o parásitos que infectan a los animales. Por ejemplo cuando un animal sufre una laringotraqueítis, el virus que la produce es fragmentado por las células del sistema inmune. Cuando los Linfocitos T reconocen éstos fragmentos dentro de una molécula de Histocompatibilidad, desencadenan la respuesta de defensa del organismo en contra de la infección. Las moléculas de clase I del CMH interactúan con los linfocitos CD8, mientras que las de clase II con los Linfocitos CD4. En el caso de estos últimos, la respuesta es en su mayoría a través de la producción de anticuerpos; los linfocitos CD8 en tanto, desencadenan una respuesta de activación y muerte de las células infectadas por otra vía.

En el caso particular de las aves el estudio de estos genes comenzó en la década del 50, cuando se creyó que eran un tipo de grupo sanguíneo. Recién en los años '60s se descubrió que estas moléculas no eran un grupo sanguíneo, sino las funciones del CMH. Se lo llamó sistema B para diferenciarlo del sistema A de grupos sanguíneos (primer sistema caracterizado de grupos sanguíneos) y hasta el presente conservan esa nomenclatura. Por esto arbitrariamente a los genes de clase I se los denomina B-F, a los de clase II B-L y a los de clase IV B-G. Estos últimos no se hallan en los mamíferos y su función aún no está muy clara, pero se sabe que colaboran con los de clase I en la respuesta inmune.

¿Cómo se organizan estos genes?

En los humanos el estudio de estos genes tomó mucha importancia con el desarrollo de los trasplantes, ya que estas moléculas son guardianes del sistema de defensa al diferenciar cuáles son las células propias del organismo de las ajenas. Por ello su estudio comenzó hace muchos años. En cambio casi todo el estudio del CMH en los animales para producción comenzó mucho más tarde, cuando se descubrió su rol de interacción con los linfocitos T, descubrimiento que dio origen a un premio Nobel (Zinkernagel y Doherty, 1996). El análisis de estos genes en los animales domésticos comenzó por extensión del conocimiento adquirido por los estudios en humanos y ratones. En las aves se comenzó a estudiar recién en la década del 80 y todavía queda un largo camino por recorrer en el análisis de sus genes.

En la mayoría de los mamíferos su organización es similar. Es un grupo de genes ubicados en un mismo cromosoma, aunque esa no es su particularidad más importante. No sólo cada gen está repetido varias veces sobre el mismo cromosoma, sino que además cada una de esas copias tiene diferentes alternativas o variantes (alelos) en la población general.

A modo de ejemplo en la figura 1 se muestra la organización de estos genes en humanos. Los genes de clase I tienen tres copias fundamentales: A, B y C; mientras que los de clase II presentan las copias DP, DO, DQ, DP y DR.

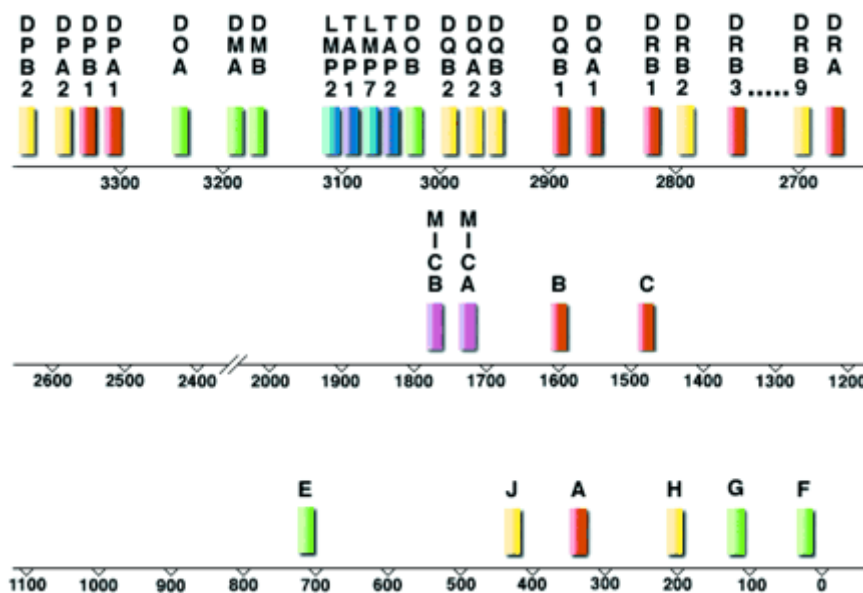


Figura 1: Mapa del complejo Mayor de Histocompatibilidad humano o HLA. Como se puede observar haya varias copias de clase I (A, B, C y D, E, F, G, J H) y varias de clase II DP, DO, DQ y DR. Cada uno de ellos pueden tener varias copias a su vez.

En la siguiente figura se muestra el número de alelos de cada una de éstas copias en toda la población ya descritos y que quizás solo se diferencian en unas pocas bases de ADN que se traducen a unos pocos aminoácidos de diferencia.

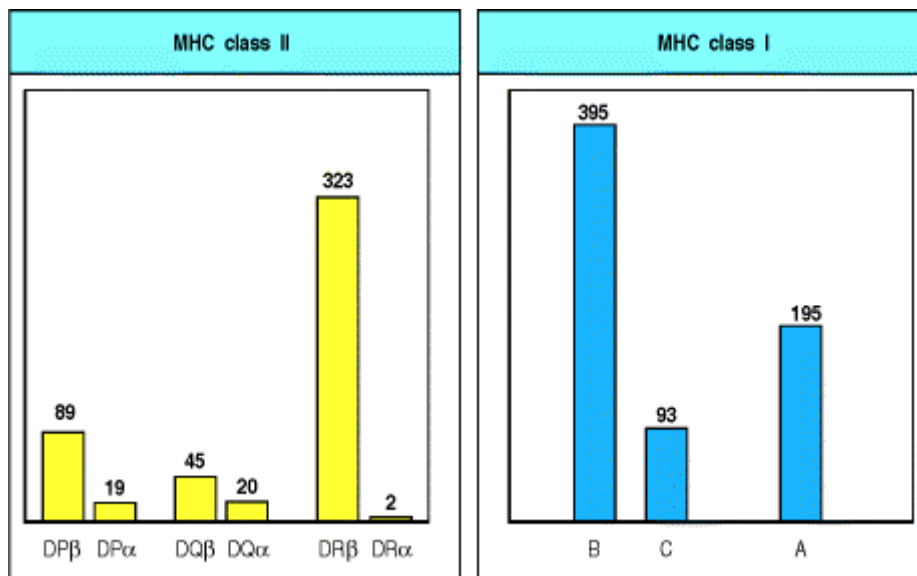


Figura 2: Cantidad de alelos de cada uno de los genes de clase I y II del CMH humano (HLA). Como vemos algunos genes tiene una enorme cantidad de variantes y otros solo unas pocas.

¿Cual es la utilidad de estudiarlos?

Actualmente, en los humanos, se ha investigado en profundidad la asociación de un determinado grupo de estas copias combinadas de clase I y II, con la susceptibilidad a alguna patología. Decimos copias combinadas porque estos genes al estar muy juntos en el mismo cromosoma se heredan en bloque. Por lo tanto heredamos por un lado la combinación materna, y por otro lado la combinación paterna; a cada una de estas combinaciones se las llama "haplotipos" y la cantidad de combinaciones de estas copias y alelos es enorme, lo que nos da una idea de la variabilidad en la población. Sin embargo existen combinaciones más frecuentes que otras y lo mismo sucede en otras especies. Algunas de ellas hacen al individuo más susceptible a sufrir por ejemplo diabetes mellitus o algunas otras enfermedades metabólicas como la uveítis anterior aguda, esclerosis múltiple, miastenia gravis, etc. Por eso en este momento, ha cobrado mucha importancia el estudio en del CMH, al igual que en animales domésticos, desde el punto de vista de la susceptibilidad o resistencia a enfermedades, y para ello es fundamental conocer el mapa de los genes y los alelos de los mismos a la perfección. Sin embargo, todo esto es dificultoso debido a que en muchos casos es necesaria la secuenciación de bases de cada copia y/o alelo de la misma, lo que aumenta el análisis a realizar.

El CMH en las aves. Diferencias con los mamíferos.

En esencia su organización es bastante diferente a la descrita anteriormente. A diferencia de los mamíferos el CMH de las aves es mucho más compacto, es decir ocupa mucho menos espacio en el genoma y además la cantidad de copias y alelos de estos genes es muchísimo menor. Esto tiene algunas ventajas y desventajas.

En el caso de los mamíferos al haber tantas copias y alelos de cada una de ellas esto le permite al organismo obtener una enorme variedad de moléculas capaces de presentar casi todos los posibles fragmentos de bacterias, virus y/o parásitos, ya que cada uno de estos fragmentos no se adaptan a cualquier molécula del CMH sino a una que lo reciba bien en su bolsillo.

En cambio, en las aves, al tener el complejo una menor cantidad de copias y/o alelos de cada copia cada uno de estas, puede ser muy buena presentadora de ciertos fragmentos infecciosos (antígenos) y a la vez muy mala presentadora para otros antígenos. (Teoría del mínimo esencial, Kaufman y col. 1985). Por ello algunos animales, por ejemplo, tienen una tasa de supervivencia al Virus de Marek del 85% mientras que otros son claramente susceptibles. Al comienzo del estudio de estos genes se los clasificó por serología. Estos animales son serológicamente B²¹ y los más susceptibles son B¹⁹. Todos estos estudios han sido realizados en aves para postura y lamentablemente poco se ha estudiado en pollos para carne o parrilleros. Los sueros no funcionan bien en estos últimos tipos de pollos y cuando se empezó a trabajar en ellos ya existían técnicas moleculares mucho más precisas. Por lo tanto ahora se recurre más a estas que a las serológicas.

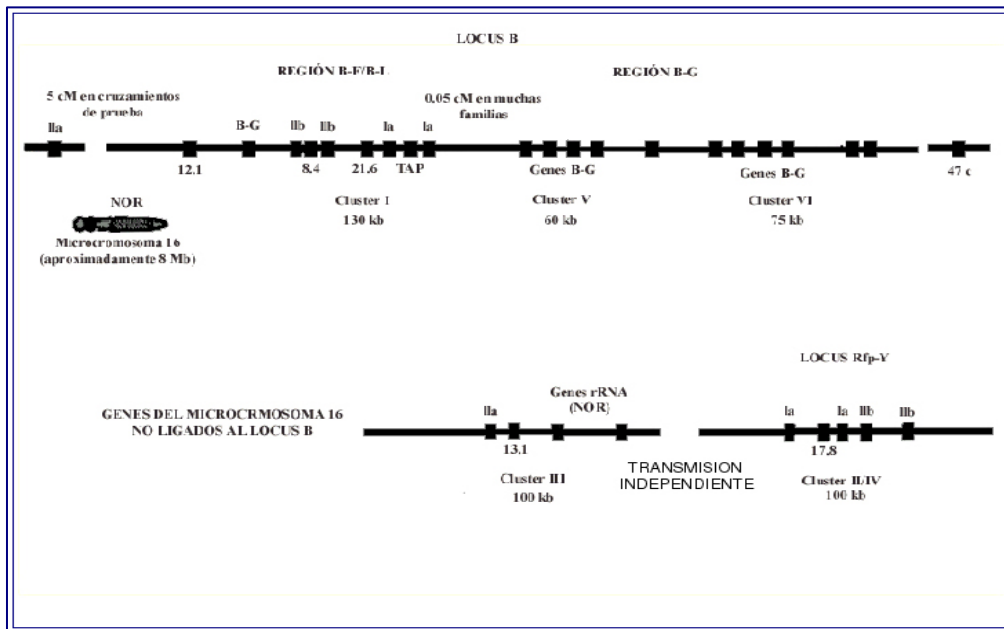


Figura 3: Primer mapa del microcromosoma 16 donde se hallan los genes del CMH en las aves. En el cluster I se encuentran los genes de clase I (B-F), los genes de clase II (B-L) y una sola copia de los genes de clase IV ó B-G. El resto de las copias de los genes B-G se hallan en el cluster IV, V y VII.

Los genes de clase IV han sido objeto de estudio debido a que existen trabajos científicos que demuestran que están asociados a la resistencia genética a coccidiosis. Aunque no se conozca aún su función, al ser los genes más polimórficos del CMH, es complicado caracterizarlos. Al comienzo se usaron técnicas que distinguían a todas las copias de los genes en conjunto. En este momento ya hay técnicas un poco más sofisticadas, pero hasta que no se conozca el número verdadero de las copias y los alelos de cada una no se podrá caracterizar a estos genes en la forma más apropiada. Una parte de nuestro grupo está trabajando en esto.

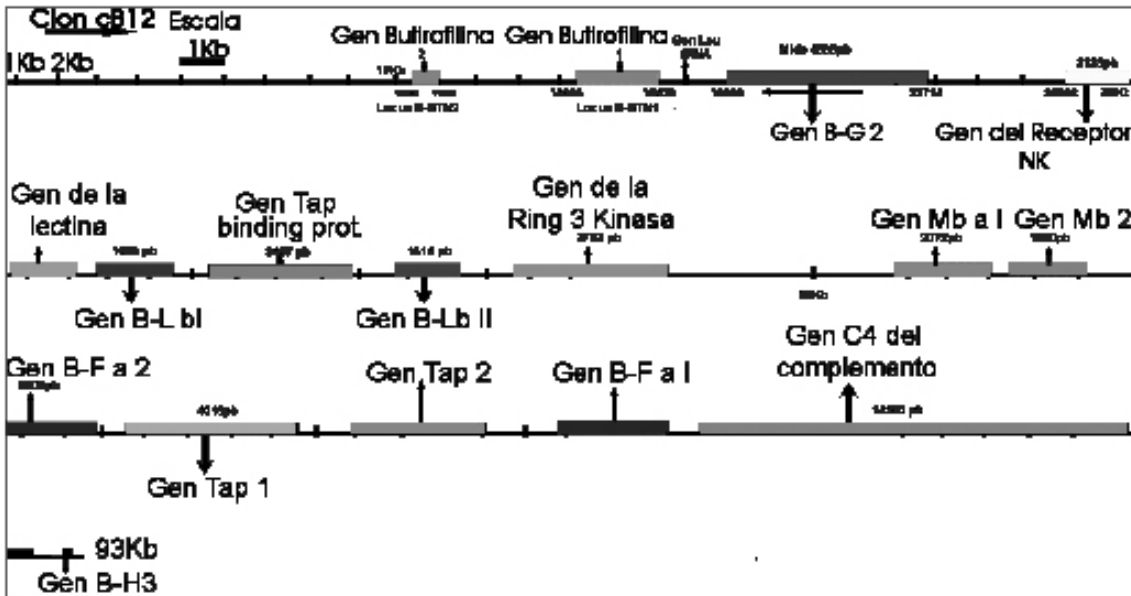


Figura 4: Mapa en escala del cluster I recientemente secuenciado (1999).

Aquí se encuentran los genes de clase I, II y IV además de muchos genes involucrados en la respuesta inmune. Como puede observarse, solo hay dos copias de genes de clase I (B-F) y dos de clase II (B-L). A su vez solo una de esas copias es la que se expresa por eso se los denomina gen mayor y gen menor.

Conclusión

En la Cátedra de Genética de la Facultad de Ciencias Veterinarias nos encontramos tratando de caracterizar a estos genes desde 1996, a partir de un proyecto financiado por CONICET y por un segundo proyecto financiado por la Agencia Nacional de Promoción de Ciencia y Tecnología. Para ello nuestro grupo se contactó con la Dra. Marcia M. Miller en EEUU (Duarte, California), quien es una experta en éste área desde 1984. Gracias a su generosa contribución tanto en la formación de recursos humanos como en la discusión científica hemos podido avanzar en la investigación de este tema en Argentina. Este contacto ha sido necesario ya que no existe otro grupo en nuestro país que se dedique al tema.

Los artículos más recomendados en el tema son:

1. Bacon, L.D. 1987. Influence of the major histocompatibility complex on disease resistance and productivity. *Poult. Sci.* **66**: 802-811.
2. Briles, W. E. and Briles, R. W. 1982(a). Identification of Haplotypes of the Chicken Major Histocompatibility Complex (B). *Immunogenetics* **15**: 449-459.
3. Goto, R. M., Afanassieff, M., Iglesias, G. M., Ewald, S. J., Briles, W. E. Miller, M.M. SSCP assays for Mhc B genotyping in Chickens. *Poultry Science* **81** (1832-1841).
4. Iglesias, G.M. 2000. Tesis de la Maestría en Biotecnología de la U.B.A.
5. Iglesias, G.M., Goto, R.M., Miquel, M.C. Lopez, O.J. and Miller, M.M., 2000. Genetic polymorphism at *Mhc B* and *Rfp-Y* in the Camperos Broiler Chickens. Proceeding of 27th International Conference on Animal Genetics. Minnesota, USA. D091.
6. Iglesias, G. M., Soria, L. A., Goto, R. M., Jar, A. M., Miquel, M. C., Lopez, O.J., Miller, M.M. Genotypic variability at the major histocompatibility complex (B and Rfp-Y) in Camperos broiler chickens. *Animal Genetics* 2003 Apr; **34**(2):88-95.
7. Jarvi, S., Goto, R., Briles, W., Miller, M.M. 1996. Characterization of Mhc genes in a multigenerational family of ring-necked pheasants. *Immunogenetics* **43** 125-135.
8. Kaufman, J., Völke H., Wallny, H-J. 1995. "A minimal essential MHC". And an "unrecognized MHC": two extremes in selection for polymorphism. *Immunol Rev* **143**: 63-88.
9. Kaufman, J., Milne, S., Göbel, T., Walker, B., Jacob, J., Auffray, C., Zoorob, R., Beck, S. 1999. The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex. *Nature* **401**: 923-925.
10. Landesman, E., Uni, Z., Heller, E. 1993. Designation by restriction fragment length polymorphism of major histocompatibility complex class IV haplotypes in chickens. *Animal Genetics* **24**: 349-354.
11. Li, L., Johnson, L.W., Ewald, S. J. 1997. Molecular Characterization of major histocompatibility complex (B) haplotypes in broiler chickens. *Animal Genetics*. **28**: 258-267.
12. Li, L., Johnson, L. W., Livant, E. J., Ewald, S. J. The MHC of a broiler chicken line: serology, B-G genotypes and B-F/B-L β sequences. *Immunogenetics*. **49**: 215-224.
13. Miller, M.M, Goto, R., Young, S., Liu, J., Hardy, J. 1990. Antigens similar to major histocompatibility complex B-G are expressed in the intestinal epithelium in the chicken. *Immunogenetics* **32**: 45-50.
14. Miller M.M., Goto R, Young S, Chirivella J, Hawke D, Miyada CG. 1991. Immunoglobulin variable-region-like domains of diverse sequence within the major histocompatibility complex of the chicken. *Proc Natl Acad Sci U S A*. May 15; **88** (10): 4377-81.
15. Miller, M.M. and Goto, R. 1993. PCR-SSCP: a method for studying the polymorphism of the B-G antigens of the chicken major histocompatibility complex. *Avian Immunology in Progress*, Tours France, ED.INRA, Paris 1993 (Les Colloques N° 62).
16. Okazaki, W., H.G. Purchase and B.R. Burmester. 1970, *Avian Disease* **14**: 413-429.
17. Payne, L.N. 1982, In B. Roizman (ed). *The Herpesviruses*, vol 1, pp 347-431. Plenum Publishing Corp., New York.
18. Soria, L. A. 2000. Tesis de la Maestría en Biotecnología de la U.B.A.
19. Soria L.A., Bonino, A.M.F., Miquel, M.C., Lopez, O.J. 2000. Genetic polymorphism in the Mhc B-L locus of Camperos, a mixed breed of broiler. Proceeding of 27th International Conference on Animal Genetics. Minnesota, USA. B108.
20. Uni, Z., Hillel, J., Waiman, R., Cahaner, A., Heller, D. 1992. Restriction fragment length polymorphism analysis of major histocompatibility complex class IV (B-G) genotypes in meat type chickens. *Animal Genetics*. **23**: 379-384.
21. Uni, Z., Sklan, D., Haklay, N., Yonash, N. and Heller, D. 1995. Reponse of three class-IV major histocompatibility complex haplotypes to *Eimeria acervulina* in meat-type chickens. *British Poultry Science*. **36**: 555-561.
22. Zheng, D. O'Keefe, G., Li, L., Johnson, L., Ewald, S. 1999. A PCR method for typing B-L β II family (class II MHC) alleles in broiler chickens. *Animal Genetics*. **30**: 109-119.

Agradecimientos:

A Eugenio Astesiano por sus aportes en la revisión y corrección del manuscrito.