

28  
2-71

# Universidad Nacional Autónoma de México



Facultad de Estudios Superiores  
"CUAUTITLAN"

COMPROBACION DE LA EXISTENCIA O NO DE  
ENDOGAMIA EN LA POBLACION DE RATAS (RATTUS  
NORVEGICUS) DEL SERVICIO DE CIRUGIA EXPERIMENTAL  
DEL HOSPITAL REGIONAL "20 DE NOVIEMBRE"  
I. S. S. S. T. E.

T E S I S  
Que para obtener el Título de:  
Médico Veterinario Zootecnista  
P r e s e n t a  
HILARIO GONZAGA MAYO



Directores de Tesis:  
DR. FERNANDO VINIEGRA RODRIGUEZ  
DR. LUIS ANGEL TERAN ORTIZ

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

1989

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# I N D I C E

	PAGINA
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
-BAZAS NATURALES.....	13
INMUENOGENETICA.....	15
SISTEMAS ALOANTIGENICOS.....	19
RESPUESTA INMUENOGENETICAMENTE CONTROLADA.....	27
PROBLEMA.....	28
MATERIAL Y METODO.....	31
-TRANSPLANTE DE PIEL.....	31
-CULTIVO MIXTO DE LINFOCITOS.....	33
RESULTADOS.....	36
DISCUSION.....	38
CONCLUSIONES.....	41
BIBLIOGRAFIA.....	44

R E S U M E N

El presente estudio se inició en el Bioterio del Servicio de Cirugía Experimental del Hospital Regional "20 de Noviembre", I.S.S.S.T.E., y se continuó en el Departamento de Inmunología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. En el bioterio se cruzaron ratas de las cepas Wistar y Long-Evans obteniéndose un híbrido, el cual se siguió cruzando entre sí hasta por 30 generaciones en el transcurso de 7 años. A la fecha este animal tiene características macroscópicas propias, diferentes a las de las cepas progenitoras. Esta "cepa" se le ha bautizado tentativamente con el nombre de "20 de Noviembre".

El propósito de esta tesis consistió en comprobar si a través de la endogamia se había llegado a la conformación de una raza, para lo cual se procedió a revisar el significado de este término, así como de la metodología para comprobarlo. Conceptualmente, un grupo de animales con poca variedad genética, puede definirse como raza, para probar lo anterior, se procedió a estudiar el complejo principal de histocompatibilidad a través de trasplante de piel y cultivo mixto de linfocitos, contando en todos los casos como marco de referencia con animales Wistar y Long-Evans.

Los resultados nos indican:

a) Todos los integrantes de las camadas tienen un fenotipo peculiar (diferente a Long-Evans y Wistar), no existien-

do reversiones.

b) Las combinaciones de los antígenos de histocompatibilidad son diferentes a las cepas progenitoras, existiendo diferencias aún entre individuos de la "20 de Noviembre", lo cual nos indica que aunque es indudable la endogamia no se ha llegado a la singenicidad.

De lo anterior, podemos concluir que sí es apropiado hablar de una raza "20 de Noviembre", y que sería conveniente caracterizar, se añaden algunas de sus constantes hematológicas.

## I N T R O D U C C I O N

Se cree que la rata (*rattus norvegicus*) es originaria de Asia, dentro de un área localizada entre el Mar Caspio y Tobolsk en la Unión Soviética, desde donde se extendieron a Europa Central, llegando a Inglaterra entre 1728 y 1730 y a los Estados Unidos de Norteamérica en 1775, (3,4,15,19).

El nombre de la especie: "norvegicus", fue adoptado por encontrarse habitando en toda Noruega. De allí que se le conozca también con el nombre de "rata noruega".

El hecho de que la rata haya mantenido una estrecha asociación con el hombre a través de todo el mundo, facilitó el que se convirtiera en la primera especie mamífera en ser domesticada con propósitos científicos (15). Así, encontramos que en Europa parece que fueron usadas para experimentos sobre nutrición desde antes de 1850 (3,15). Sin embargo, ya no hay duda de que las primeras experimentaciones con ratas correspondieron a los trabajos del francés Phillipeaux, quien estudió los efectos sufridos por ratas albinas al quitarles las glándulas adrenales. Este trabajo fue publicado en Francia en 1856, traducándose al inglés en 1863. Por otra parte el alemán Crampe efectuó el primer intento de crianza de ratas (tanto albinas como silvestres) con fines experimentales, entre 1877 y 1885 (15).

En los Estados Unidos, S. Hatai hace estudios neuroanatómicos en estos animales ya en 1890. A su vez, Adolfo Meyer experimenta con ratas albinas de campo en Worcester, Massa-

chusetts, en 1895 (15). A este respecto, el origen de las ratas albinas está dudoso, según declara H. H. Donaldson en 2 artículos separados (15). No está claro si son descendientes de cepas de laboratorios europeos o si provienen de mutantes de las ratas silvestres capturadas en los Estados Unidos.

La variedad Wistar debe su nombre a que se originaron en el Instituto Wistar, con sede en Philadelphia, E.U.A. Dicho Instituto está dedicado a la anatomía y biología —en general— y fue inaugurado en mayo de 1894. No empezó a operar sin embargo, hasta 1906 (3,4).

En relación a los modelos animales experimentales en donde la rata ha sobresalido, se puede definir a ésta como: un organismo viviente, con una enfermedad adquirida de manera natural o inducida experimentalmente, que semeje lo más posible al fenómeno que ocurre con el hombre (35).

En términos generales, los modelos se pueden clasificar de la siguiente manera:

- a) Espontáneos o naturales;
- b) Inducidos por el investigador o experimentales (aquí se incluyen las mediciones de efectos de toxicidad a nuevos medicamentos); y
- c) Mixtos, como en el caso de modelos genéticos, donde a través de la consanguinidad se logra la homocigocia a algunos genes, de tal manera que se manifiestan aún las características recesivas; a veces de

predisposición a alguna enfermedad, aunque ésta se manifiesta espontáneamente.

Las limitaciones más temidas en los modelos son: por un lado, que los resultados no se comparen a los hechos naturales; y por otro, que estos resultados no sean extrapolables al ser humano.

Las justificaciones para recurrir a modelos animales se pueden resumir en varios puntos:

1. Cuestiones éticas, es decir, la experimentación en animales se prefiere a la experimentación en humanos porque este último conoce los riesgos que implica participar, esto incluye: riesgo de pérdidas de vida; mutilaciones o pérdida parcial de función; dolor, alteraciones o desequilibrios emocionales; y cuestiones genéticas;
2. Las variables genéticas y ambientales en los modelos animales pueden ser modificadas y controladas a voluntad. Con esto se puede precisar, entre otras cosas, la relación causa-efecto de un factor en particular, y también, aumentar la reproducibilidad en resultados al obtener una mayor uniformidad genética;
3. Se pueden estudiar varias generaciones en períodos cortos, lo que cambia favorablemente la escala del tiempo; y
4. Se puede disponer de todos los tejidos completos, para su análisis detallado.



Como podemos ver, la rata —entre otros animales— llena perfectamente los requisitos para ser utilizada como un modelo animal, ya que su estado silvestre se ha manipulado genéticamente para fijar o resaltar algunas características hereditarias consideradas favorables para la investigación. Esta selección genética ocurre a veces en forma natural y a veces inducida por el hombre, desde hace mucho tiempo (20).

Era del conocimiento general que en colonias de animales suficientemente pequeñas y aisladas (total o parcialmente), en donde sus miembros se reproducen en forma natural mediante una cierta consanguinidad no controlada, el acervo genético se manifiesta mejor. Posteriormente, esto fue utilizado deliberadamente para "fijar" algunas características hereditarias convenientes (25).

Para lograr obtener animales idóneos —tanto para propósitos reproductivos como experimentales—, habría que apoyarse en que la genética ha provisto ya técnicas reproductivas para obtener animales genéticamente idénticos, que garanticen una respuesta uniforme a cualquier estímulo de prueba. Esto se logra mediante la endogamia. En el caso de las ratas de laboratorio, se han hecho apareamientos entre hermanos durante 20 generaciones o más, con objeto de lograr la homogenidad necesaria y sin pérdidas de vigor. Las hembras han producido camadas tan numerosas en estas condiciones de apareamiento, que cabe compararlas equitativamente con las camadas cubiertas por machos no emparentados.

La consanguinidad fija caracteres. Si ésta se acompaña de la selección, se puede aumentar la uniformidad fenotípica entre los animales dentro de una línea consanguínea específica (como podría serlo, por ejemplo, el color de la capa, el que aparece condicionado por varios genes), (33).

En la línea anterior se pueden ubicar los trabajos de Roberto Bekewell (1725-1795), quien aproximadamente unos 100 años antes que Gregorio Mendel hiciera su contribución a la genética, utilizó cruza entre parientes muy próximos a fin de fijar y uniformar algunas características de calidad superior, consiguiendo mejorar —en grado notabilísimo— tanto a ovinos de la raza Leicester, como a vacunos de la Raza Longhorn y a equinos Shire, en Inglaterra (14). Posteriormente, en Delaware (E.U.A.) se lograron mejoras en cerdos de la raza Yorkshire y Berkshire siguiendo esta misma estrategia, a la vez que Duron inicia trabajos semejantes con gallinas, en Connecticut (E.U.A.), (27).

Es por estas razones que vemos en la endogamia un punto de partida importantísimo en la manipulación genética para la obtención de razas (25).

La endogamia significa reproducción entre parientes cercanos. A través de este sistema de reproducción, se puede lograr una uniformidad genética en los animales de tal forma que las diferencias biológicas entre el grupo control y el experimental sean mínimas; o bien, a través de manipulaciones (tales como el retrocruzamiento) obtener animales congénicos,

en que solamente difieran en un gene o grupo limitado de genes, estudiando su contribución por separado (33).

A través de estos procedimientos, también se pueden obtener animales que presentan algunas alteraciones genéticas, (algunas veces recesivas) y que pudieran ser equivalentes a enfermedades naturales o espontáneas. Por ejemplo, la diabetes inducida por aloxana o estreptozotocina no es igual a la producida en una rata pancreatectomizada o también a la que manifiesta la rata genéticamente diabética Bio Breeding, para utilizarlas como modelos experimentales de la diabetes humana.

Por lo anterior resulta fácil comprender que, una de las principales metas al trabajar en bioterios de unidades de investigación biomédica, es contribuir a la obtención tanto de una raza como de una línea singénica (32).

Hay tres puntos principales que resolver con este propósito:

- 1o. Estandarización: descripción de criterios para definir una raza;
- 2o. Esquemas de cruzamientos; y
- 3o. Propósito del trabajo.

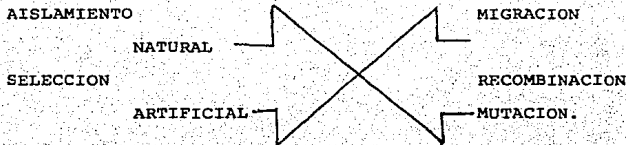
Hay que dejar en claro que, el concepto de "raza" en las especies biológicas —y también en la humana— es todavía bastante indefinido, aceptándose en general la siguiente definición: posesión de características comunes en un grupo de individuos, de tal manera que los distinga de otros (32). Las

características más frecuentemente empleadas son macroscópicas, tales como formas, colores y tamaños. Con el avance de la biología, se cuenta actualmente con la posibilidad de estudiar marcadores genéticos (polimorfismos), ampliándose al espectro de estudios para determinar la variación genética. Así, tenemos: grupos sanguíneos; inmunoglobulinas; antígenos de histocompatibilidad; etc., por citar algunos ejemplos (5).

Lo que todavía no se precisa es qué tanta variabilidad, dentro de un grupo, se denomina raza o bien subraza; lo que está perfectamente claro son los extremos de la escala (ver cuadro No. 1, en la página siguiente).

En la figura No. 1, se presentan los factores que afectan a la formación de las razas.

FIGURA No. 1



CUADRO No. 1

ASPECTOS DE VARIABILIDAD DE CARACTERISTICAS GENETICAS

ESPECTRO DE VARIABILIDAD GENETICA.

ESTANDARIZACION DE CRITERIOS

ESPECIE	RAZA	SUBRAZA	CEPA SINGENICA
Conjunto de poblaciones variables, formadas de modo dinámico como una unidad colectiva aislada, en cuanto a su reproducción del resto del mundo biótico (33).	Variedad o Subgrupo (5,34).		Población de individuos idénticos entre sí (homocigotos en todas sus características genéticas). (22, 26).
SELECCION NATURAL	SELECCION NATURAL + AISLAMIENTO		SELECCION ARTIFICIAL  CLONA: Población de individuos idénticos entre sí (no homocigotos en sus características genéticas) (16, 29).

## C R I T E R I O S

¿Cómo determinar cuándo se ha conseguido una raza?

Como anotamos anteriormente, el concepto mismo de raza no esta precisado, estando de acuerdo en que se puede agrupar en ella a individuos que tengan algunas características comunes, por supuesto que genéticamente determinadas.

Por tanto, habiendo demostrado una cierta variabilidad, habremos logrado definir a una raza. Con tal fin, hemos clasificado algunos criterios básicos:

- |   |                                   |
|---|-----------------------------------|
| 1. Constancia fenotípica en las filiales (color; forma; tamaño) de las razas de origen; | CARACTERISTICAS<br>MACROSCOPICAS. |
| 2. Grupos sanguíneos;   | METODOS<br>INMUNOLOGICOS          |
| 3. Antígenos de histocompatibilidad;  |                                   |
| 4. Diferencias electroforéticas.  | METODO<br>FISICOQUIMICO.          |

De esta manera, queda claro que en bioterios la consanguinidad es el pivote para la formación artificial de razas, enriqueciendo así a los grupos de animales con genes o características interesantes a estudiar.

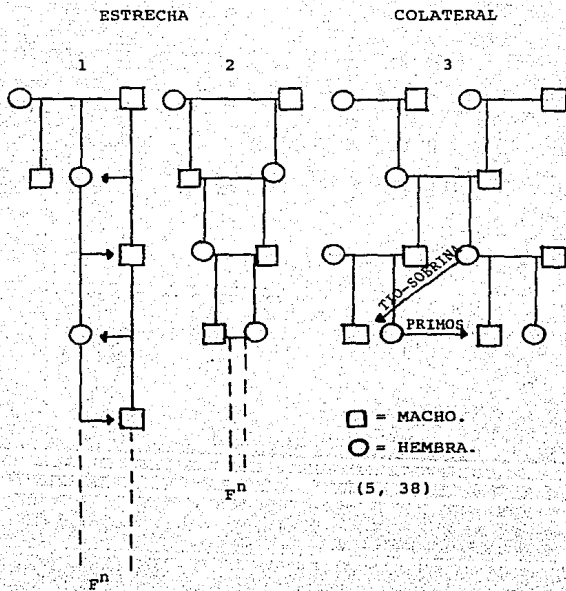
Existen 2 clases de consanguinidad: (ver Fig. No. 2).

- a) La estrecha; y
- b) La colateral.

a) La consanguinidad estrecha se realiza en tres clases de apareamiento.

FIGURA No. 2

ENDOGENIA



- 1.- Padre con su hija;
- 2.- Hijo con su madre;
- 3.- Hermano con su hermana, de padre y madre.

b) La consanguinidad colateral se realiza en tres clases de apareamiento:

- 1.- Cruza entre medio-hermanos;
- 2.- Cruza entre primos;
- 3.- Cualquier otro apareamiento entre individuos que tengan uno o varios ascendientes comunes, antes de la sexta generación.

A continuación se mencionan algunos ejemplos de razas obtenidas por los métodos de cruzamiento mencionados y sus características genéticas más sobresalientes (20).

#### RAZAS NATURALES

Existen 124 razas naturales de ratas de laboratorio, las que se han obtenido por consanguinidad estrecha y básicamente mediante apareamientos de hermanos con hermanas, de padre con madre, entre algunas de estas razas y sus características básicas para estudios de laboratorio, tenemos las siguientes:

- |           |   |
|-----------|---|
| ACI -F100 | Susceptible a trasplante de tumores espontáneos.                    |
| AGUS -F35 | Susceptible para encefalomiелitis alérgica experimental.            |
| ACH --F73 | Alta incidencia de linfosarcoma espontáneo mesentérico e iliocecal; |



AS -F60 Susceptible a hipertensión;

A990 -F87, A7322 -F34 y COP-F73; resistente a cisticir-  
cosis;

A35322-F50 Trasplante de carcinoma broncogénico;

BDE -F35 Microftalmia;

BN -F35 Hidronefrosis congénita.

DONRYV-F59 Aceptación del 100% de trasplante de sarco-  
ma y hepatoma ascítico;

GH -F31 Hipertensión;

LEW -F67 Susceptible a artritis;

NSD -F50 Carcinoma mamario y alta presión sanguínea  
sistólica;

PA -F180 Leucemia Lk2;

RCS -F20 Desarrollo de cataratas;

Z61 -F70 Susceptible a cisticircosis; y

LOU/C-F20 Buena respuesta a IgE para albúmina y DNP  
hapteno.

### INMUNOGENETICA

Los genes de histocompatibilidad tienen una importancia decisiva en la aceptación o rechazo de un injerto. Si el do nador y el receptor son genéticamente idénticos, se dice que el trasplante es singénico (o isogénico) y en ese caso a los injertos intercambiados se les llamará isoinjertos. Cuando el intercambio de injertos ocurre entre individuos genéticamente diferentes, aunque de la misma especie, se les llama aloinjertos. Bajo circunstancias normales, el receptor reconocerá a un injerto como extraño y por tanto lo rechazará debido a la presencia de antígenos de superficie en las células (aloantígeno) que son diferentes a las del donante, estimulando, por tanto, la respuesta inmune del receptor. Cuando ocurre entre individuos genéticamente diferentes y de diferentes especies, se dice que el injerto es xenogénico y los injertos se denominarán xenoinjertos (7,16,18,20).

Dentro de esta decisión de aceptar o rechazar injertos entre individuos genéticamente diferentes, existen muchos genes involucrados. Los grupos de diferencias quedan englobados dentro del complejo mayor y el complejo menor de histocompatibilidad. Lo de "mayor" y "menor" está directamente relacionado con la inmunogenicidad, siendo de mayor inmunogenicidad los más peligrosos, en aquellos casos de rechazo cuando expresan diferencias; los de menor inmunogenicidad, en cambio, son menos decisivos cuando se da un rechazo, en

caso de ser diferentes. Otra cosa importante es que, en la mayoría de las especies, dentro del complejo mayor de histocompatibilidad existen los genes que controlan gran parte de la regulación de la respuesta inmune (3).

En la superficie de las células existen antígenos que generalmente son glicoproteínas. Las funciones de varios aloantígenos permanecen aún desconocidas; sin embargo, al ser claves en algunas respuestas biológicas, tales como rechazos de tejido; interacción célula-célula; interacciones feto-maternas; y en una amplia gama de respuestas que tienen que ver con el aparato inmunológico en las especies animales, deben jugar un papel biológico importante y tener una gran responsabilidad en la función evolutiva. Los antígenos de histocompatibilidad los vamos a encontrar ampliamente distribuidos en tejidos tales como eritrocitos, linfocitos, riñón, cerebro, hígado, bazo, ojo y piel. En la rata existen dos sistemas antigénicos conocidos: el clásico antígeno de histocompatibilidad llamado RT1, y los grupos sanguíneos denominados RT2 (4).

La detección de estos antígenos —o de estos sistemas antigénicos— depende de la obtención de sueros apropiados de reconocimiento, a partir de inmunizaciones ya sean alogénicas o xenogénicas. Cuando nosotros recurrimos a inmunizaciones xenogénicas (por ejemplo, para obtención de antisueros tipificadores de ratas obtenidas de conejos), las células con las que vamos a despertar la producción de estos anticuerpos

poseen muchos más antígenos; por tanto, una vez obtenidos los antisueros, debemos absorberlos con tejidos apropiados, a fin de eliminar aquellos anticuerpos que no sean deseados y de esta manera convertirlos en sueros operacionalmente monoespecíficos. Así se obtienen los anticuerpos contra los grupos sanguíneos  $RT_2$ , inmunizando conejos repetidamente con eritrocitos de rata cada tercer día, hasta doce inyecciones, sangrándolos después, desde el 6o. hasta el 7o. día después de la última inyección. El antisuero resultante debe ser repetidamente absorbido con los eritrocitos de rata apropiados, a fin de remover todos los anticuerpos que estén dirigidos contra antígenos específicos y de esta manera dejar solamente aquellos que nos puedan reconocer los grupos sanguíneos  $RT_{2a}$  ó  $RT_{2b}$ . Por otro lado, los reactivos para tipificar los antígenos de histocompatibilidad  $RT_1$  fueron preparados inmunizando cepas alogénicas a través de injertos de piel, y posteriormente, con linfocitos obtenidos a partir de bazo. Es decir, primeramente se aplica un trasplante de piel de aproximadamente  $2\text{ cm}^2$ , ya sea en la piel de la cola de la rata o bien en el tórax, recibiendo a los tres meses después un segundo injerto de piel, del mismo individuo o de la misma cepa. Posteriormente, durante 3 semanas, quedan inmunizados por linfocitos de origen esplénico (3).

Para hacer esto, es muy importante seleccionar cuidadosamente los pares inmunizadores e inmunizados para que tengan la menor cantidad de diferencia de histocompatibilidad,

incluyéndose tambien a los antígenos de eritrocitos; de esta manera, obtendríamos antisueños lo más monoespecíficos posibles, evitándonos hasta donde sea posible la absorción.

Una vez obtenidos los antisueños, éstos son probados contra un panel de células que representan a los diferentes tipos de histocompatibilidad. Los métodos más adecuados son los de hemaglutinación y los de linfocitotoxicidad (6,11,16).

### SISTEMAS ALOANTIGENICOS

Las cepas de ratas usadas en el laboratorio son derivadas a partir de un número limitado de ratas silvestres. A partir de ellas se han establecido colonias con trabajos experimentales desde 1850 a la fecha, habiéndose así obtenido la mayor parte de las cepas singénicas en el Instituto Wistar, derivadas a partir de un grupo reducido de animales. El resultado ha sido una severa limitación de la diversidad genética entre las cepas puras de ratas. Los primeros trabajos en describir los antígenos presentes en los eritrocitos resultaron en el establecimiento de grupos antigénicos separados. En una descripción sobre el tema, Owen se refiere a los antígenos según grupos tales como A, C, D, E y F. Posteriormente, los sistemas fueron definidos y estos grupos fueron restablecidos por Palm y Black, empleando el símbolo "Ag", combinándolo con letras mayúsculas que denotaban el locus genético. Así se produjeron designaciones como Ag-A, Ag-B y Ag-C, sumándose un cuarto grupo, el Ag-D, que correspondía al antígeno 2 de Palm, presente en los eritrocitos de las ratas WF (18,21, 36).

El locus de Ag-A fue definido por la presencia natural de aglutininas en el suero de individuos que carecen de este antígeno, quienes producen el anticuerpo denominado "alfa".

Prácticamente todas las cepas singénicas comúnmente empleadas en el laboratorio tienen el alelo A expresado y reac

cionan positivamente con el anticuerpo "alfa" (11).

El sistema aloantigénico Ag-B se mostró expresado en las células de un tumor de ascitis, (AA). El rechazo del tumor fue acompañado con la producción de un anticuerpo que reaccionaba contra antígenos de eritrocitos que contenían varias cepas. La resistencia al tumor de ascitis fue asociado con la falta de especificidad del antígeno de locus B, y por tanto, de la producción de anticuerpos de rechazo. Estos resultados demostraron que, tanto en la rata como en el ratón, antígenos específicos de eritrocitos pueden estar asociados con diferencias -en el complejo principal de histocompatibilidad- entre cepas. De tal manera que, si realizamos inmunizaciones recíprocas entre animales, éstas pueden dar lugar al descubrimiento de múltiples alelos dentro del locus Ag-B, presentes como antígenos de eritrocitos. Durante el desarrollo de este trabajo surgió una segunda nomenclatura para este sistema aloantigénico. Stark y sus colaboradores propusieron el término H-1 para el locus más poderoso de histocompatibilidad, paralelo con el sistema del ratón (3). Esta nomenclatura y la clasificación de un cierto número de cepas de ratas ha sido presentado en revistas de inmunogenética y comparaciones directas se han hecho entre las cepas. Su clasificación se realiza ahora por estos dos sistemas de nomenclatura (17).

La descripción de antígenos de sangre B, una especie de complejo principal de histocompatibilidad, condujeron al

descubrimiento de un número de funciones inmunológicas controladas por genes muy cercanamente relacionados a este locus. Trabajos recientes con recombinaciones han permitido observar que el complejo principal de histocompatibilidad de la rata se puede dividir en este complejo de genes, hasta en tres regiones. Conforme se ha incrementado el conocimiento de este sistema tan complejo en la rata, una nomenclatura más uniforme ha ido reemplazando a la de Ag-B y H<sub>1</sub> y estas designaciones fueron adoptadas en las reuniones de trabajo sobre histocompatibilidad en ratas, celebrado en Roma -Italia- en septiembre de 1978. El prefijo RT va a designar ahora a todo el sistema aloantigénico en la rata y los sistemas individuales van a hacerse asignando números secuenciales; de esta manera, el complejo principal de histocompatibilidad en la rata ha sido designado RT1 (antiguamente: Ag-B o H<sub>1</sub>), (17).

La región A del complejo principal de histocompatibilidad contiene los genes que codifican para los antígenos de histocompatibilidad serológicamente definidos como Ag-B/H<sub>1</sub>. En las tablas 1 y 2 (ver página siguiente), se presentan las nomenclaturas y conversiones para el complejo RT1 y la clasificación más común de las cepas de ratas, conteniendo los tres sistemas aloantigénicos. Dentro de RT1, los haplotipos que contienen (o son característicos de) las cepas de ratas frecuentemente comparten una o más especificidades antigénicas, pero la combinación de todas ellas es característica de uno



TABLA No. 1  
 NOMENCLATURA DE CONVERSIONES DEL SISTEMA  
 ALOANTIGENICO DE RATAS (3).

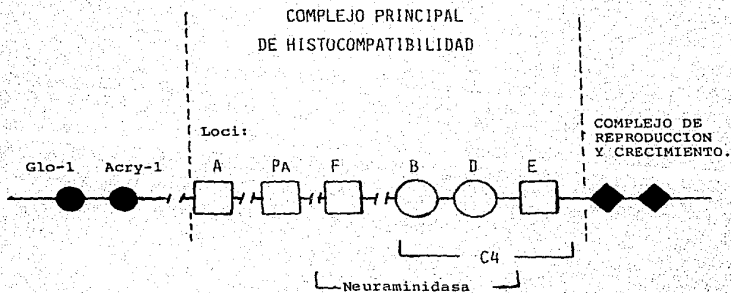
RT1	RT1		RT2		RT3		Ag-D
	Ag-B	H-1	RT2	Ag-C	RT3	Ag-D	
a	4	a	a	1	a		1
b	6	b	b	2	b		0
c	5	c					
d	9	d	a,b,c,d,e,f,g,h,i,k,m,n,u y w representan el haplotipo.				
f	10	f	1,2,3,4...13 representan la secuencia de los haplotipos.				
g	7	g					
h		h					
k	8	k	Ag-B complejo principal de histocompatibilidad.				
i	1	i	Ag-C antígenos de grupos sanguíneos.				
m	13	m	Ag-D sistema aloantigénico.				
n	3	n	RT3 sistema aloantigénico.				
u	2	w					

TABLA No. 2  
 CLASIFICACION DEL SISTEMA ALOANTIGENICO SELECCIONADO  
 EN CRIA DE RATAS (4).

RAZAS	HAPLOTIPO	RT1		RT2	RT3
		REGION A	REGION B		
LE	1	1	1	a	a
WF	u	u	u	b	a
WAG	u	u	u	b	-
WKA	k	k	k	a	a

WF Wistar Furth  
 WAG Wistar Albino Glaxo.  
 WKA Wistar King Albino.  
 LE Long-Evans.

FIGURA No. 3



- = Antigenos de clase I
- = Antigenos de clase II
- C4 = Antigenos de clase III.

(18)

de los grupos. Todas las especificidades antigénicas están codificadas por genes codominantes --presentes en la región A del complejo principal de histocompatibilidad-- y son expresadas en la superficie de las células de muchos diferentes tejidos. También se han obtenido anticuerpos que son poliespecíficos o se comportan poliespecíficamente, dando reacciones positivas en muy diferentes cepas que contienen haplotipos de RTI diferentes. Esto se debe a la presencia de antígenos públicos, muy semejantes a los ya descritos en el ratón y en el hombre. En la rata, como en otras especies, los antígenos codificados para la región A son dímeros de glicoproteínas, consistentes de dos cadenas no covalente unidas, de aproximadamente 37,000 y 11,000 daltons de peso molecular (3).

Siguiendo los reportes iniciales de Bogden y Aptekman, acerca de la asociación o correlación entre el complejo RTI y la incompatibilidad de trasplante de tejidos, varios investigadores encuentran una asociación entre la incompatibilidad RTI y los rechazos, en una gran diversidad de tejidos transplantados. Desafortunadamente, existen a veces variaciones en el tipo de rechazo, dependiendo del tejido que se haya transplantado. Por ejemplo, se obtiene un tiempo más prolongado en el rechazo completo cuando se hacen trasplantes de piel que cuando se utiliza otra clase de tejidos, como el corazón. El número de antígenos de histocompatibilidad que pudiera estar en un tejido en un momento dado sería muy

variable y esto explicaría la variación del tiempo de rechazo. En otro ejemplo, el corazón podría presentar una mayor cantidad o riqueza de algunos antígenos (quizá los del complejo menor de histocompatibilidad) que jugarán un efecto sumatorio a los del complejo principal de histocompatibilidad y esto diera como resultado rechazos más tempranos que los observados en la piel. Sin embargo, a pesar de estas variaciones, es innegable la correlación que existe entre la compatibilidad donador-receptor en el complejo RT1 y el tiempo de sobrevivencia, no importando tanto el órgano de que se trata (18).

Los antígenos de grupos sanguíneos RT<sub>2</sub> están codificados por un simple locus genéticos, con dos alelos de RT<sub>2a</sub> y RT<sub>2b</sub>, anteriormente conocidos como Ag-C1 y Ag-C<sub>2</sub>. Los alelos son expresados predominantemente sobre la superficie de eritrocitos de células hepáticas y de células de bazo, pero no se han demostrado ni en linfocitos ni en plaquetas. El locus RT<sub>2</sub> segrega, independientemente del locus RT1, el sistema aloantigénico RT3 (anteriormente conocido como Ag-D), controlando la expresión de un antígeno que fue descrito primero en la cepa WF. Aparentemente, el RT<sub>3</sub> no está asociado con el locus RT1. Los antisueros son producidos por hiperinmunización con linfocitos y son capaces de distinguir, por hemaglutinación, hasta 29 cepas que contienen el RT<sub>3a</sub>. En condición, 7 cepas no reaccionan al alelo antes descrito y se han denominado RT<sub>3</sub>.

Recientemente, un sistema aloantigénico linfocitario ha sido descrito como el Ag-F, presente en varias cepas. El locus controla la expresión antigénica presente en la superficie de linfocitos derivados de timo, curiosamente asociado con el color del pelo para el albinismo. También pudiera estar muy cercanamente relacionado con el sistema Pta de Howar y Scott; al LY<sub>1</sub>, sistema de Fabre y Morris; o al A.R.T., sistema de Lubaroff (21).

La región B del RT1 contiene genes que codifican para un segundo grupo aloantigénico, que es bien diferente a los antígenos de histocompatibilidad de la región A previamente descrita. Estos antígenos son considerados, en la rata, homólogos a la región I del ratón, por las siguientes razones: primero, son glicoproteínas, con peso molecular aproximadamente de 28,000 a 35,000 daltons, que también muestran una limitada distribución, fundamentalmente a linfocitos B. Y tercero, que están muy relacionados con genes que controlan la respuesta en el cultivo mixto de linfocitos (6).

RESPUESTA INMUNOGENETICAMENTE CONTROLADA

Como todos sabemos, los antígenos de histocompatibilidad no sólo son decisivos en el rechazo cuando son diferentes, sino que también guardan relación muy estrecha con el control genético de la respuesta inmune. En esto destacan principalmente los antígenos del grupo B de las ratas mencionadas, las que parecían ser equivalentes a los de clase I del ratón. Hata este momento, no se sabe cómo ocurre esta relación de regulación en la respuesta inmune y el juego de especificidades en particular. Lo que sí sabemos, es que la presencia de los antígenos de histocompatibilidad -tanto RT1 como la región B- es importante en el reconocimiento "célula a célula", tanto para la presentación de antígenos como para la destrucción de ellos por linfocitos sensibilizados (11).

P R O B L E M A

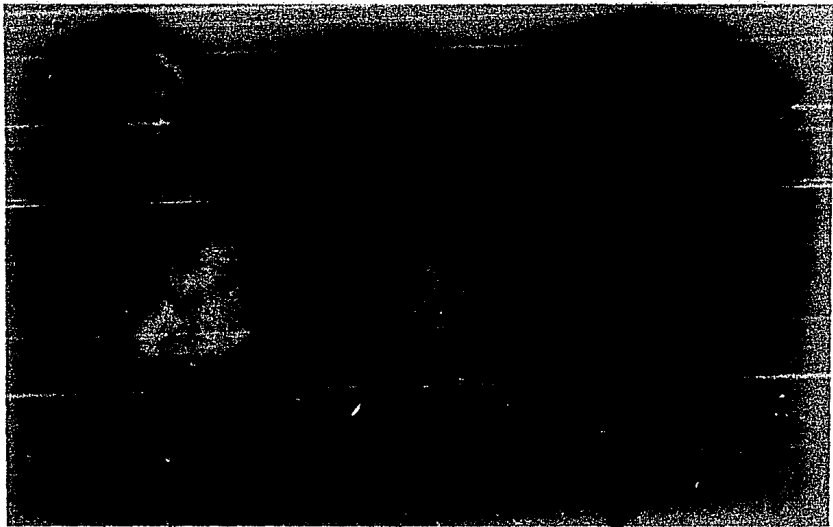
En 1977, el bioterio del Hospital Regional "20 de Noviembre" contaba con una población de 80 ratas de la cepa "Wistar" como dotación de animales para experimentación básica, y en 1981, al ingresar un nuevo lote de 20 ratas de la cepa "Long-Evans", se empiezan a producir apareamientos entre las cepas, dando origen a las variaciones de color que, en último término, permitió fijar el color negro en la cepa: "20 de Noviembre". (Ver figura No. 3).

Ahora bien, como las cruzas realizadas han sido muy estrechas, desde ese tiempo a la fecha se han obtenido, como resultado de esas cruzas, crías con características diferentes a las cepas que le dieron origen. Esto ha devenido en una rata que, provisoriamente, ha sido denominada: cepa "20 de Noviembre", registrando las siguientes características:

- Negra casi en su totalidad, con algunos tonos parduzcos y con una cinta blanca en la porción ventral de su cuerpo, clásica de la "Rattus norvegicus".

Al encontrar ~~entonces~~ cambios fenotípicos en estas ratas y al saber que se han efectuado cruzas tan estrechas, hemos llegado a suponer que ya se ha logrado una cepa endogámica, (véase figura No. 4).

FIGURA No. 4



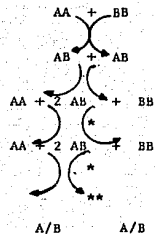
WISTAR

LONG-EVANS

20 DE NOVIEMBRE

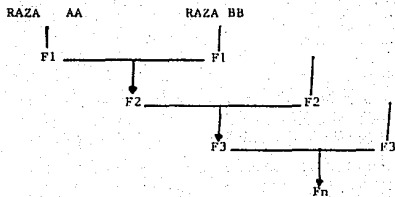


FIGURA No. 5



\* Si se cruzan Long-Evans o Wistar se obtiene una proporción binomial. Un argumento más de que no es mestizo.

AA = WISTAR.  
 BB = LONG - EVANS.  
 A/B = 20 DE NOVIEMBRE.



\* SELECCION ARTIFICIAL

Todavía, eventualmente, dentro de las camadas nacen individuos con fenotipos originales. (LE o W).

\*\* RECOMBINACION (¿MUTACION?)

\* No. aprox. 30 generaciones (en 7 años). Características fenotípicas "fija", ya no hay nacimientos con fenotipos originales sin llegar a ser singénicos pues se rechazan trasplantes de piel y reaccionan positivamente en el cultivo mixto de linfocitos.

El problema concretó que hubo que resolver, entonces, fue si la cepa "20 de Noviembre" ya puede ser considerada como una raza. Este problema exigió abocarse a los siguientes puntos:

MATERIAL Y METODOS

1. Criterios Fenotípicos Morfológicos;
2. Se estudiaron variaciones alélicas del Complejo Principal de Histocompatibilidad, a través de dos procedimientos:
  - a) Transplante de piel; y
  - b) Cultivo mixto de linfocitos.

M E T O D O

TRANSPLANTE DE PIEL

Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico por vía intraperitoneal (2.52 mg/100 grs. de peso) y después de rasuradas, se realizó asepsia y antisepsia. Los injertos de piel consistieron en discos de 10 a 15 mm. de diámetro, obteniéndose de la región dorsal; inmediatamente después, se lavaron con solución de ringer estéril y se mantuvieron humedecidos y en frío (4° C.), hasta su aplicación en el receptor, suturando los injertos con 4 puntadas y utilizando catgut No. 3/0. Las combinaciones se presentan en el cuadro No. 2. (Ver siguiente página).

Posteriormente a la cirugía, las ratas fueron aisladas en jaulas independientes, observándose los injertos diariamente y llevando los registros correspondientes. A los 12 días de transplantadas, las ratas injertadas fueron sacrificadas y las pieles fijadas en glutafomal, para estudios de

CUADRO No. 2

	20 DE NOVIEMBRE	WISTAR	LONG-EVANS
20 DE NOV.	20 DE NOV. 20 DE NOV.	WISTAR 20 DE NOV.	LONG-EVANS 20 DE NOV.
WISTAR	20 DE NOV. WISTAR	WISTAR WISTAR	LONG-EVANS WISTAR
LONG-EVANS	20 DE NOV. LONG-EVANS	WISTAR LONG-EVANS	LONG-EVANS LONG-EVANS

microscopía de luz.

#### CULTIVO MIXTO DE LINFOCITOS

A las ratas se les extrajo 8 ml. de sangre por punción cardíaca, en condiciones estériles, con jeringa B-D plastipak de 10 ml. y con aguja del número 22. Se pasó después la sangre a un tubo de ensayo de vidrio con tapa de rosca de 16 x 150 mm. y con perlas de vidrio que, con movimientos suaves y rítmicos, fueron agitadas hasta lograr la desfibrinación de la sangre. Así se procedió con la sangre de las 12 ratas que se utilizarón para la prueba.

Al tener todas las muestras de sangre desfibrinada en un tubo de ensayo de 13 x 100 mm. se pusieron 5 ml. después de introducir hasta el fondo una pipeta pasteur, a través de la cual se depositaron 3 ml. de solución separadora (histopaque 1077, de Sigma Chemical Co. St. Louis Missouri, U.S.A.), con una densidad final de 1.072 a 1.076, luego este gradiente se puso a centrifugar a 1400 rpm. durante 30 a 40 minutos y el medio de cultivo que se utilizó fue RPMI 1640 de Microlab, con 20% de suero fetal de ternera, ajustando a un pH neutro. Posteriormente, se agregaron 100 U.I. de penicilina, 100 microgramos de estreptomycin y 1 ml. de glutamina; todo esto, en 100 ml. de medio de cultivo.

Se recuperaron las células con ayuda de una pipeta de Pasteur, en la banda de linfocitos que se localiza cerca de la interfase del suero y la solución separadora. Luego se lavaron los linfocitos con medio de cultivo y se centrifuga-

ron a 1000 rpm. durante 10 minutos, repitiendo la operación dos veces más. Finalmente, se resuspendieron las células en 1 ml. de volumen final contando con un hematocitómetro y se ajustaron en una concentración final de  $1 \times 10^6$  células, por ml. de medio de cultivo.

Cuando la recuperación de linfocitos es a partir de bazo, se presiona el bazo, con la ayuda de una varilla de vidrio, contra las paredes de un tubo de ensayo que contenga medio de cultivo. Se toma luego el sobrenadante, el que posteriormente se centrifuga con la solución separadora, de igual manera que la sangre.

Al tener los linfocitos de cada una de las ratas, se dividieron en dos partes iguales: una parte se irradió con bomba de cobalto 60 con una dosis total de 3,000 rads., denominándoles a esas células "estimuladoras" representando al donador; la otra mitad no se irradió, denominándoles a esas células "respondedoras", representando al receptor.

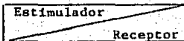
Al tener las dos poblaciones de células, se sembraron en una placa de cultivo (de la marca Microtest de Falcon Plastics, División Bio Quest, E.U.A.), conteniendo 96 pozos, con fondo plano, y a cada pozo se le puso 0.1 ml. (100 microlitros) de cada suspensión de linfocitos, según el esquema combinatorio reseñado en el cuadro No. 3.

CUADRO No. 3

COMBINACIONES ENTRE CELULAS RESPONDEDORAS Y ESTIMULADORAS  
DE LAS DIFERENTES RAZAS DE RATAS UTILIZADAS

	W <sup>E</sup> -1	W <sup>E</sup> -2	L.E. <sup>E</sup> -3	L.E. <sup>E</sup> -4	20 Nov. <sup>E</sup> -5	20 Nov. <sup>E</sup> -6	A
W <sup>R</sup> -1	W W	W W	L.E. W	L.E. W	20 Nov. W	20 Nov. W	B
W <sup>R</sup> -2	W W	W W	L.E. W	L.E. W	20 Nov. W	20 Nov. W	C
L.E. <sup>R</sup> -3	W L.E.	W L.E.	L.E. L.E.	L.E. L.E.	20 Nov. L.E.	20 Nov. L.E.	D
L.E. <sup>R</sup> -4	W L.E.	W L.E.	L.E. L.E.	L.E. L.E.	20 Nov. L.E.	20 Nov. L.E.	E
20 Nov. <sup>R</sup> -5	W 20 Nov	W 20 Nov	L.E. 20 Nov	L.E. 20 Nov	20 Nov. 20 Nov	20 Nov. 20 Nov	F
20 Nov. <sup>R</sup> -6	W 20 Nov	W 20 Nov	L.E. 20 Nov	L.E. 20 Nov	20 Nov. 20 Nov	20 Nov. 20 Nov	G
	I		II		III		H

W = Wistar.  
L.E. = Long-Evans.  
20 Nov. = "20 de Noviembre".  
1,2,3,4,5,6 = Número de secuencia de ratas.  
I,II, III = Cultivo por duplicado de c/rata.  
E = Células estimuladoras (donador).  
R = Células respondedoras (receptor).



R E S U L T A D O S

1. MORFOLOGIA: (ver figura No. 3).

WISTAR.- Rata de color albino, con ojos rojos; el peso en adulto es de 250 a 300 gramos en hembras y de 350 a 450 gramos en machos (8).

LONG-EVANS.- Rata de color blanco, excepto cabeza, cuello, hombros y parte dorsal; que puede variar la mancha o ir desde una forma de "V" del hombro al dorso, o en forma de línea desde la cruz hasta la base de la cola; o también las manchas pueden ser discontinuas por toda la parte dorsal, desde la cruz hasta la base de la cola, su peso en adulto es de 250 a 300 grs. en hembras y de 350 a 450 gramos en machos (8).

20 DE NOVIEMBRE.- Rata de color negro casi en su totalidad, con algunos tonos parduzcos y con una cinta blanca en la porción ventral del cuerpo; su peso en adulto es de 250 a 300 gramos en hembras y de 350 a 450 gramos en machos.

2. TRANSPLANTE DE PIEL: (ver figura No. 3).

Los injertos de piel se realizaron entre las cepas 20 de Noviembre, Wistar y Long-Evans. Los injertos presentaron los siguientes cambios macroscópicos (9,31).

El color del tejido implantado a los dos días se oscureció, adoptando un rojizo violáceo que paulatinamente llegó a café claro. A la palpación, se notaba una induración que abarcaba la totalidad del injerto. Los labios de la herida fueron separándose, hasta terminar con un esfacelamiento com

pleto del trasplante. El tiempo, desde el trasplante hasta el esfacelo, varió desde 6 días entre 20 de Noviembre y Wistar, hasta 10 días, entre 20 de Noviembre y Long-Evans. Cortes histológicos del tejido implantado mostraron: cúmulos de células inflamatorias; epitelio con solución de continuidad; dermis y músculos subcutáneos con necrosis extensa; hemorragia; y vasos con necrosis fibrinoide en su pared.

Al observar estos cambios, se deduce que las cepas 20 de Noviembre no han llegado aún a la homocigocia.

3. CULTIVO MIXTO DE LINFOCITOS: (ver cuadro No. 4).



DISCUSION

En los trasplantes de piel que se realizaron entre cepas 20 de Noviembre-Wistar, 20 de Noviembre-Long-Evans, el rechazo se presentó el 6o. y 10o. días; por el tiempo se considera un rechazo agudo; solo se presenta entre poblaciones de animales genéticamente diferentes; por esta razón podemos afirmar que la cepa 20 de Noviembre se le puede considerar ya diferente en comparación a las cepas que le dieron origen. Un dato más es el color de la cepa 20 de Noviembre que se fijó el color negro en todo el cuerpo a diferencia de sus progenitoras que son: albinas las Wistar y negras con manchas blancas las Long-Evans; esta cepa tiene 5 genes que influyen en su color, presentación de manchas blancas, estas se restringen o se expanden y su distribución. En el caso de la reducción de la mancha en sus descendientes han resultado en un color negro total como se presenta en la cepa 20 de Noviembre (4).

Cultivo mixto.- Los resultados obtenidos mediante el cultivo mixto, no difieren de los expuestos con los trasplantes de piel, y su violencia se manifiesta en la cantidad de timidina radiactiva que se incorpora durante el proceso de mitosis de las células respondedoras. En este caso la cepa 20 de Noviembre cuando se enfrentó a Wistar dió un promedio de 630 cpm y contra Long-Evans 650 cpm. Ahora haciéndolo en sentido inverso, es decir cuando la cepa 20 de Noviembre estuvo como estimuladora, provocó incorporaciones en la Wistar

de 1900 cpm. y en la Long-Evans de 1810 cpm respectivamente. Cuando las cuentas por minuto (cpm) son bajas, como en este caso de 630 y 650, se interpretan como semejanza genética, y las cuentas altas como en el caso de 1810 y 1900, indican cierta diferencia genética (11).

**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

CUADRO No. 4

RESULTADO DEL CULTIVO MIXTO DE LINFOCITOS

320 cifras Animales.	W <sup>E</sup>	L.E. <sup>E</sup>	20 Nov. <sup>E</sup>
W <sup>R</sup>	$\bar{X} \begin{smallmatrix} + \\ 590 \pm 40 \end{smallmatrix} \begin{smallmatrix} ++ \\ \end{smallmatrix}$	1020 $\pm$ 180	1900 $\pm$ 1570
L.E. <sup>R</sup>	1070 + 290	670 + 300	1810 + 1320
20 Nov. <sup>R</sup>	630 $\pm$ 130	650 $\pm$ 180	800 $\pm$ 260

+ Cuentas por minuto de radiactividad de timidina tritiada incorporada.

++ Desviación estandar (DS).

R Respondedora,

E Estimuladora.

Fórmula:  $\bar{X} = \frac{\sum X}{N}$

$\sum$  Sumatoria,

X Cuentas por minuto,

N Número de Animales (320),

$\bar{X}$  Promedio de cuentas por minuto.

$$D.S. = \sqrt{\frac{\sum D^2}{N - 1}}$$

### C O N C L U S I O N E S

Recordemos que la definición de raza en una especie animal es el de un grupo de individuos que, por poseer poca variabilidad genética, presenta cierta uniformidad fenotípica, permitiendo así distinguirse de otros grupos de su misma especie.

Durante 7 años, se han obtenido aproximadamente 30 generaciones de alta consanguinidad, lo cual nos da una idea de la gran endogamia reinante. Por lo tanto, nuestras conclusiones son las siguientes:

- 1o. De acuerdo a los resultados macroscópicos, la cepa "20 de Noviembre" cumple con la definición de raza, siendo diferentes en el color a las cepas progenitoras Wistar y Long-Evans;
- 2o. Ya no se presentan reversiones en las camadas que recuerden fenotípicamente a las cepas progenitoras;  
y
- 3o. Los antígenos de histocompatibilidad, por los resultados obtenidos en transplantes de piel que exploran diferencias en RT1 y RT2, nos están diciendo que:
  - a) Las cepas Wistar, Long-Evans y 20 de Noviembre son diferentes, y también 20 de Noviembre entre sí; y
  - b) Por lo observado en el cultivo mixto de linfocitos y sobre todo debido a la incorporación de timidina ( $TH^3$ ), es posible concluir de que no

Hay singenicidad entre individuos "20 de Noviembre",

Por todo lo anterior, podemos afirmar: que efectivamente la cepa "20 de Noviembre" es una raza, lo que daría por concluido el objetivo de esta tesis.

Para trabajos futuros y especialmente para la cepa "20 de Noviembre", recomendamos el esquema de cruzamiento No. 2, de la figura No. 2, para llegar a obtener la singenicidad y su uso como modelo experimental propio para trasplantes.

Por último, la Tabla No. 4 registra las constantes bioquímicas y los valores de referencia y resultados de la citología hemática.

TABLA No. 4

P R U E B A S	N O R M A L	R E S U L T A D O S					
		W.	W.	L.E.	L.E.	20 Nov	20 Nov.
COAGULACION	2 minutos.						
GLUCOSA	10-15 mg/dl	156	169	161	194	133	255
UREA	15-22 mg/dl	22	22	21	27	21	21
CREATININA	0.4-1.5 mg/dl	0.6	0.5	0.3	0.6	0.5	0.5
GLOBULOS BLANCOS $\times 10^3$	$14 \times 10^3$ ml	4.7	4.1	3.1	4.2	5.9	3.9
GLOBULOS ROJOS $\times 10^3$	$7.2-9.6 \times 10^3$ ml.	5.77	7.03	3.65	7.45	3.3	7.89
HEMOGLOBINA gm	15.69 gm/dl	12.1	13.5	5.2	13.9	15.6	14.5
HEMATOCRITO %	46%	34.7	38.5	20.9	37.8	43	40.6
V.G.M. $m^3$		60	55	56	51	52	52
H.C.H. mmg		21.1	19.3	14.4	18.7	18.6	18.4
C.M.H.C.		35.1	35.2	25.2	36.9	36.1	35.7
BILIRRUBINA	.12-.40 mg/dl						
LINFOCITOS	86% leucocitos						
MONOCITOS	UPTO 6%						
EOSINOFILOS	3-4 %						
BASOFILOS							
NEUTROFILOS	14-20%						
PLAQUETAS	500-1'000 000						

W=Wistar, L.E. = Long-Evans, 20 Nov.- 20 de Noviembre.

SE TOMARON DOS SUJETOS POR CEPA, QUE NO ESTABAN EN AYUNO; PARA DEMOSTRAR POSIBLES DIFERENCIAS Y/O SEMEJANZAS, POR LO CUAL LA GLUCOSA SE ENCUENTRA ELEVADA.

BIBLIOGRAFIA

1. Acker Duana,  
Zootecnia e Industria Ganadadera,  
Cap. 19, Pág. 357, año 1977, Primera Edición,  
Diana, México.
2. Bach Jean Francois,  
Immunology,  
cap. 13, Pág. 400, año 1984, segunda edición,  
John Wiley & Sons, New York, USA.
3. Beker Dennis E. J.  
The Laboratory Rat; Vol. I,  
Cap. 7, Pág. 163, año 1979,  
Edición Academic Press, New York, U.S.A.
4. Beker L. Lindsey, J. Weisbroth, H. Cristine y  
S. F. Williams.  
The Laboratory Rat Vol. II,  
Cpa. 10, Pág. 247, año 1980, segunda edición.  
Academic Press; New York, U.S.A.
5. Briggs, Hilton M.  
Modern Breeds of Livestock,  
Cap. 1, Págs. 2-9; año 1969, tercera edición,  
The Macmillan Company Colier, Macmillan Limited London.
6. Butcher, Geoffrey W.; Howard C. Jonathan.  
A recombinant in the major histocompatibility complex  
of the rat.  
Nature 266 (3), 362-364, (1977).
7. Carpenter, Philip L.  
Immunología y serología,  
Cap. 4, Pág. 477, año 1972,  
Prensa Médica Mexicana.
8. Ceballos González Gerardo, Galindo Leal Carlos.  
Mamíferos silvestres de la cuenca de México,  
Parte II, Págs. 121 y 122, año 1984, primera edición,  
Editorial Limusa; México.
9. Conalty, M.L.  
Husbandry of Laboratory Animal,  
Gyözö Petrányi Jr. and László Kállai,  
Sec. I, Págs. 43-49, año 1967, primera edición.  
Academic Press, London and New York.

10. Collins R. George, Ramos Mejía.  
Manual para Técnicos en Animales de Laboratorio,  
Cap. 1, Págs. 66 y 68, año 1974.
11. Cramer V. Donald, Davis K. Bridgett, Shonnard W. John,  
Stark Ptakar and Gill III J. Thomas.  
Phenotypes of the major histocompatibility complex in  
wild rat of diferent geographic origins.  
Journal of immunology 120 (1), 176-186, (1978).
12. Davis D. Bernard, Dulbecco Renato.  
Tratado de Microbiología,  
Cap. 18, pág. 608, año 1977, primera edición.  
Salvat Editores, Barcelona (España).
13. De la Loma José Luis,  
Genética General y Aplicada.  
Cap. IX, Págs. 235-247, año 1973, Tercera Edición,  
Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana.
14. Einsmenger,  
Zootecnia General,  
Cap. 2, Págs. 21, 235 y 236, año 1976, segunda edición,  
El Ateneo; México.
15. Falconer S. D.,  
Introducción a la genética cuantitativa,  
Cap. 3, 5 y 14, págs. 78, 115 y 295, año 1980,  
Primera Edición,  
Cía. Editorial Continental, S.A., México.
16. Farris J. Edmond and Griffith Q. John, Keeler E. Clyde,  
The rat in Laboratory Investigation,  
Cap. 14, Págs. 415-420, año 1949, segunda edición.  
Hafner Press a Division of Macmillan Plebis-Hing Co.  
N. Y.
17. Fritz Najarian Johns, Bach H. R. E. Davis, Sutherland T.  
Felix, Rapaport W., Wurst J. T., Epplen and Günther E.,  
Vol. VIII, págs. 747 y 748, año 1985.  
Grune & Stratton (Harcourt Brace Jovanovich) New York.
18. Gill III, thomas, Cramer V. Donald, Kenz W. Heins.  
The Major Histocompatibility Complex - Comparison in  
the Mouse, Man and the Rat.  
American Journal of Patology 90 (3), 737-746, (1978).



19. Green L. Earl "Roscoe B. Jackson".  
Biology of Laboratory Mouse,  
Cap. 2, Págs. 163-167, año 1979, Segunda Edición.  
Academic Press, New York, U.S.A.
20. Griffith Quintin John, Farris J. Edmon,  
The rat in Laboratory Investigation,  
Cap. 14, Pág. 351, Año 1942, Primera Edición.  
J.B. Lippincoll Company; London, Montreal, Philadelphia.
21. Günther Eberhard and Rude Erwin.  
Genetic complementation of histocompatibility linked Ir  
genes in the rat.  
Journal of Immunology 115 (5), 1387-1393, (1975).
22. Hafes E.S.E. I.P. Beurett and Vickery H.B.  
Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory  
animals.  
Cap. 17, Págs. 299-307, Año 1970, Primera Edición.  
Lea an Fiberger, Philadelphia, Pensylvania, U.S.A.
23. Hagedoorm L.A.,  
Cría de Animales.  
Cap. XIX, Págs. 187 y 202, Año 1966  
Editorial Tecnos, S.A., Madrid.
24. Humprey and White C.R.  
Inmunología Médica,  
Cap. I, Pág. 25, Año 1972, Segunda Edición,  
Ediciones Toray, S.A. Barcelona (España).
25. Hutt B. Frederick,  
Animal Genetic,  
Cap. 17, Pág. 382, Año 1964, Quinta Edición.  
The Ronall Press Company; New York, U.S.A.
26. Lane-Petter W., Pearson A.E.G.,  
The Laboratory Animal,  
Cap. 4, Págs. 59 y 60, Año 1971,  
Academic Press, Ney York, U.S.A.
27. Lasley F. John  
Genética del Mejoramiento del Ganado,  
Cap. 17, Págs. 171, 176, 178-179, año 1963, Primera  
Edición,  
Unión Tipográfica Hispano-Americana.
28. Lerner I. Michael and H.P. Donald,  
Modern Developments in Animal Breeding,  
Cap. 6, Pág. 123, Año 1966, Segunda Edición.  
Capademic Press, London and New York.

29. Lush L. Jay,  
Bases para la selección animal,  
Cap. VIII, Págs. 135-152, Año 1969, Décima Edición,  
Ediciones Agropecuarias Peri; Argentina.
30. Mawell Clyde and Beker C. M. Ann.  
Molecular Biology and the Origin of Species,  
Cap. II, Pág. 305, Año 1970, Primera Edición,  
University of Washington Press Seattle.
31. Marting Allgöwer,  
Manual de Cirugía,  
Enderlin F. y Harder F.  
Cap. 12, Pág. 565, Año 1977.  
Científico Médico; Barcelona, (España).
32. Melbey Edwar Jr., Melvin W. Balk.  
The importance of Laboratory Animal Genetics Health,  
and the Environment in Biomedical Research.  
Parte IV, Págs. 239-240, Año 1976, Quinta Edición,  
Academic Press, Inc. London.
33. Mettler E. Laurence and Gregg G. Thomas,  
Genética de las Poblaciones y Evolución,  
Cap. 3, Pág. 60, Año 1972, Primera Edición,  
Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana.
34. Farrier Rainy,  
Tratado Elemental de Zoología,  
Cap. IV, Págs. 62-63, Año 1944, Octava Edición,  
Editora Nacional, México.
35. Selman, Moises.  
Aportación Personal del Dr. Moises Selman, Jefe de la  
División de Investigación Clínica del Instituto Nacional  
de Enfermedades Respiratorias,  
Secretaría de Salud, México.
36. Suciú-Foca Nicole, Reed Elaine, Rohowsky Christine,  
Influence of Race on the Predictability of Mxed  
Lymphocyte Culture Identity by HL-DR Mating,  
Transplantation 35 (1), 35 (1983).
37. Watson D. James.  
Biología Molecular del Gen,  
Cap. 1, Pág. 19, Año 1981, Tercera Edición,  
Fondo Educativo Interamericano.
38. Winters M. Laurence,  
Introduction to Breeding Farm Animals,  
Cap. X, Págs. 136-151, Año 1950, Séptima Edición,  
Care Technical Book Fund.