

APORTACIONES DE LA INFORMATICA A LA INVESTIGACION
INMUNOGENETICA EN GRUPOS SANGUINEOS Y POLIMORFISMOS
BIOQUIMICOS*

(A CONTRIBUTION TO THE TREATMENT OF BLOOD GROUP AND CHEMICAL
POLYMORPHISM DATA BY COMPUTER).

por

J. ALTARRIBA**

Introducción.

Los problemas, limitaciones y condiciones más importantes los resumimos a continuación:

1. Si se desea aplicar estas modernas técnicas a las poblaciones animales más importantes de un país, debe programarse con mucho tiempo *de antelación la fabricación de reactivos y hacerla de manera amplia y regular en el tiempo.*

2. El criterio que sostiene la Asociación Internacional de Centros de Investigación de esta especialidad (ISABR)***, a la que pertenece el Departamento de Genética de la Facultad de veterinaria de Zaragoza, es el de ayudar al establecimiento de *bancos autónomos* en cada país, mediante la donación inicial de un "panel", pero sin surtir indefinidamente reactivos.

3. Resulta imprescindible la *posesión previa de una población probada*, con el fin de programar las series de inmunizaciones preparatorias a la fabricación de reactivos.

4. El número de reactivos en fase preparatoria de identificación de los animales donadores-receptores ha de ser muy amplio, ya que existen reacciones especiales debidas a la presencia de otros antígenos del donador no identificados, que originan respuestas difíciles de detectar e interpretar.

5. Una vez identificada una amplia población de animales, en la que, como se verá más adelante, existe una supuesta y extensa gama de factores antigénicos, se presenta al investigador la tarea de elegir de entre los animales identificados aquellos

* Resumen de la tesis doctoral dirigida por el Prof. Dr. D. Isafas Zarazaga Burillo (Director del Departamento de Genética y Mejora de la Facultad de veterinaria de Zaragoza).

** Profesor Ayudante de Genética, de la Facultad de veterinaria de Zaragoza. Becario del Ministerio de Educación y Ciencia.

*** (ISABR) International Society for Animal Blood Groups Research.

Recibido para publicación el 22-11-77.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

que se diferencian en la posesión (binomio presencia-ausencia) de alguno o algunos factores. Este trabajo de elección, cuando el número de *parejas donador-receptor* es elevado, resulta imposible hacerlo sin la ayuda de la informática.

6. El hecho de haber estudiado la fabricación de sueros, lleva de la mano el problema de cómo una vez obtenidos deben ser conservados y mantenidos en condiciones óptimas para su utilización posterior, es decir, debemos estudiar tanto la clasificación y ordenación de los sueros fabricados como la accesibilidad y utilización posterior *del banco de sueros y reactivos*.

7. Los modernos estudios inmunogenéticos han demostrado que además de lo que clásicamente se viene estudiando como grupos sanguíneos, existen una serie de estructuras bioquímicas en los seres vivos que reguladas genéticamente, tienen un enorme interés en la investigación. Cada líquido orgánico (sangre, leche, esperma, líquido cefalorraquídeo) está siendo estudiado por los especialistas, surgiendo cada día nuevos descubrimientos de *polimorfismos bioquímicos* de muy variada índole, en los que la regulación, en cuanto a su síntesis o su dinámica metabólica, tiene su sentido genético.

8. Una aplicación inmediata de los grupos sanguíneos y polimorfismos bioquímicos es la denominada chequeo o mejor *verificación del parentesco*. En la identificación genealógica de animales selectos de los países más adelantados, esto constituye una práctica rutinaria.

9. Todos los apartados anteriores giran alrededor de la formación permanente de unos *archivos* de muy variada índole, en los que se incluyen informaciones diversas del historial de cada animal y de sus características inmunogenéticas. La confección de estos archivos responde a necesidades previstas o mediatas y es en realidad el eje de la información total de todo el trabajo.

Como veremos más adelante, las soluciones que se proponen, con las variantes diversas preparadas en este trabajo, prestan una vía de acceso al problema, con gran facilidad y eficacia.

Material utilizado y estructura de los programas.

Los trabajos de computación de este trabajo se han realizado mediante el ordenador Univac-1108, del Ministerio de Educación y Ciencia (35, 36, 37). La programación se ha efectuado en Fortran V (11, 16, 34).

Toda la información (programas y datos) dispuesta para ser utilizada, se encontrará almacenada en la cinta UZRV01.

Cada pase (RUN) especificará una tarea diferente a realizar, siempre a partir de la información almacenada en esta cinta. Estará especificada la localización de los programas, subrutinas y datos mediante fichas de control, que junto con las de los parámetros, serán leídas en un terminal remoto.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

Entendemos por RUN (pase) la ejecución de una tarea específica mediante la utilización de ordenadores electrónicos. Cada RUN viene identificado por un nombre y por un proyecto. Siempre que hablemos de un RUN determinado nos referiremos al proyecto, ya que hemos asignado a todos el mismo nombre (ZRALFA).

En cada RUN pueden diferenciarse los siguientes componentes:

- Grupos de instrucciones al EXEC-8.
- Grupos de programas.
- Datos o más genéricamente, información.

Se denominan *módulos de control* (o elementos de control), el conjunto de instrucciones EXEC-8 que permiten utilizar la configuración del ordenador más adecuada a cada RUN. Se crearán tres tipos de módulos de control:

a) Módulos Start-Control. Estos elementos serán los encargados de formar el elemento absoluto, asignar las facilidades necesarias en el sistema y ejecutar la programación.

b) Módulos Fin-Control. Estos módulos únicamente se crearán para los pases que llevan consigo actualización de algún fichero de datos. Contendrán instrucciones de control para cargar adecuadamente el fichero actualizado en el soporte elegido.

c) Módulos de subcontrol. Estos serán los elementos Asignación y Liberación.

Los *módulos programados* (o elementos programados) son los grupos de instrucciones en Fortran, ordenados, para alcanzar unos fines definidos. Los módulos de programación pueden ser:

a) Programas principales. Consideramos programa principal al grupo de instrucciones en Fortran que se encuentra en el vértice de la pirámide jerárquica, que se impone respecto al resto de los módulos programados. Podrán ser:

-- Específicos. Serán programas principales específicos, los que sólo puedan utilizarse en un pase.

-- Inespecíficos. Los programas principales inespecíficos podrán estar en la cabeza de la programación de varios pases.

b) Subrutinas. Serán subrutinas, o subprogramas, el conjunto de instrucciones en Fortran cuya actuación estará subordinada al programa principal o a otras subrutinas, efectuando un tratamiento repetitivo. Distinguimos varios tipos de subrutinas.

-- Patrón. El tratamiento efectuado por las subrutinas patrones será único para varios pases.

-- Modular. Las subrutinas modulares realizarán un tratamiento no sometido a patrón y únicamente serán válidas para un pase. Serán subprogramas que se hayan fabricado para independizar la programación en una porción del programa principal.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

Grupos de subrutinas. Funciones específicas (lectura, interpretación de claves), que varían de un pase a otro (con tareas similares), serán efectuadas por subrutinas del mismo nombre y fines idénticos, pero con variaciones en los medios utilizados. Según la variante del pase que se ejecuta será preciso intercalar el módulo adecuado.

La información inmunogenética se almacenará agrupada según:

Tipo de información.

Formato de almacenamiento (f. a.)

Organización de la información.

A su vez existirán dos tipos de información:

Archivos fijos, sin actualizaciones.

Archivos con actualización.

En la cinta UZRV01 únicamente se definirá un "fichero". Este fichero se encontrará dividido en elementos simbólicos de manera que cada elemento contendrá un módulo (control, programado o de información).

Cada pase se iniciará con el siguiente paquete de fichas:

@ RUN,/TPCR ZRALFA. UZR, proyecto, tiempo, páginas.

@ MSG, W CINTA URZV01 ENTRADA DE DATOS. GRACIAS.

@ ASG, T CINTA., F2.

@ ASG, T. D./F2/1/TRK/necesarios.

@ COPIN CINTA., D.

Los pases que no lleven consigo actualización, seguirán así:

@ ADD D. nombre del elemento Start-Control.

fichas de datos y parámetros.

@ FIN

Pero si el pase procede a la actualización de algún fichero, terminará de la siguiente manera:

@ ADD D. nombre del elemento Start-Control.

fichas de datos y parámetros.

@ ADD D. nombre del elemento Fin Control.

@ FIN.

*Metodología comun original creada en el presente trabajo**

Creación de claves.

Los puentes de unión entre la nomenclatura inmunogenética y el lenguaje informático se establecen mediante las claves que pasamos a detallar.

a) *La clave de los Factores Antigénicos Sanguíneos mediante Un Dígito (CFASUD)*, soluciona adecuadamente el problema de la diversidad de reacciones posibles antígeno-anticuerpo, en la identificación bioquímica de los factores antigénicos presentes en los eritrocitos, y la posibilidad de conocer la existencia o ausencia de estos factores por métodos indirectos (análisis de la descendencia, estudio de diversas inmunizaciones).

Se ha previsto un máximo de 99 factores, ocupando cada uno de ellos un dígito y especificándose las siguientes posibilidades, en la identificación de cada factor antigénico y en cada caso:

0. *No reacción. Título 0* en la dócima hemolítica y no puede deducirse la presencia del factor mediante el estudio de los fenogrupos parentales.

1. *Reacción dudosa.* Corresponde a una lectura, en la prueba hemolítica, en la que se observa una hemólisis incipiente que tanto puede ser debida a una reacción antígeno-anticuerpo muy débil, como a la fragilidad eritrocitaria, por causas diversas, como a la utilización de un suero complementario con una actividad así mismo débil.

2. *Reacción débil pero definida.* Es la producida en la prueba hemolítica, cuando se utilizan sueros anti muy específicos, pero cuyo título es muy débil.

3. *Reacción definida.* Es la correspondiente a una hemólisis completa, en la prueba hemolítica.

4. *Deducido ausente.* Para los factores antigénicos eritrocitarios, que se deducen mediante el estudio de los fenogrupos parentales, pero que no se han sometido a prueba por carencia del antisuero correspondiente en el panel rutinario de reactivos.

5. *Deducido dudoso.* Para los factores que se deducen así mismo por el estudio de los fenogrupos parentales, pero cuyo antisuero correspondiente, en el panel de reactivos, no ha producido hemólisis.

6. *Presente dudoso.* Corresponde al factor eritrocitario que ha dado positivo en la dócima hemolítica y sin embargo su presencia se pone en duda, ya que no existe en sus ascendientes parentales.

7. *Factor antigénico en estudio* Se utiliza esta clave para aquellos factores que se incluyen en el panel de reactivos, pero de los que todavía no se tiene perfecto co-

* Los formatos de entrada (f.f.p.), así como los formatos de salida (f.e.) y las listas de los programas, elementos de control y diagramas, no se incluyen en el presente resumen. Para mayor información dirigirse al autor (Departamento de genética y mejora. Facultad de veterinaria de Zaragoza).

ALTARRIBA: INFORMÁTICA E INVESTIGACION INMUNOGENÉTICA.

nocimiento, en cuanto a su integración en fenogrupos poco conocidos o desconocidos.

8. *No sometido a prueba.* La dócima hemolítica no se ha realizado mediante este factor, y a su vez no se puede deducir a partir del estudio de los fenogrupos de sus antecesores.

b) La clave CFASDD (*Código de los factores Antigénicos Sanguíneos mediante dos dígitos*) viene a sintetizar la información específica en el CFASUD y la prepara para su utilización:

Los 100 primeros números naturales codifican la presencia de un factor sanguíneo, excepto 00 que significa ausencia. La transformación de la clave CFSUD en la clave CFASDD se lleva a cabo en orden ascendente, de acuerdo con la Tabla primera.

c) Mediante la clave *Alfanumérica de Identificación de Fenogrupos (CANIF)*, se asignan 39 dígitos, o posiciones de memoria, para la identificación de cada alelo. Se distribuyen de la siguiente manera:

— 1 dígito alfabético, para la identificación del *locus* en cada sistema (A, B, C, F, J, L, M, S, Z, R, T, N).

— 2 dígitos para la identificación de cada alelo, a excepción de los alelos del *locus* B que necesitan 3 posiciones.

— 36 dígitos para la identificación de los factores que posee cada alelo. Cada factor viene codificado en CFASDD. Está previsto un máximo de 18 factores por cada fenogrupo.

d) *La Clave Alfanumérica de Identificación de Polimorfismos Bioquímicos (CANIPB)* asigna al fenotipo de cada animal un espacio para cada uno de los dos alelos, pudiéndose utilizar cualquier letra del alfabeto. En el caso de que sean necesarios dos espacios para la representación de un alelo, se utilizan otros caracteres (numéricos o incluso especiales), que se hallan codificados en lenguaje de máquina.

En una primera fase y dentro de los límites de nuestro trabajo, se establece la siguiente clave, que hasta el momento resulta suficiente: 0, dudoso (?); 1, A1; 2, A2; 3, B1; 4, B2; 5, C1; 6, C2; 7, D1; 8, D2; 9, E1.

Cualquier información inmunogenética, concerniente a grupos sanguíneos, irá de acuerdo con la clave CFASUD, o mediante la clave paralela CFASDD. Estas codificaciones corresponden a los factores que se utilizan de manera tipificada en la identificación del ganado vacuno (ver cuadro I). Por lo tanto, éstas serán las claves utilizadas en cualquier actividad informática de este trabajo, tanto en los archivos como en los pases.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

Pero en ocasiones, el laboratorio de grupos sanguíneos mantiene investigaciones sobre configuraciones que no se hallan codificadas en el CFASDD, únicamente como objetivos experimentales, fruto a veces de su colaboración con otros laboratorios de inmunogenética. Para ofrecer una mayor colaboración con la investigación bioquímica, se crearán las *Claves Experimentales de Grupos Sanguíneos* necesarias para dar cabida a los nuevos factores que se tengan en cuenta en fases experimentales. A modo de ejemplo, en el cuadro II, presentamos el CEGS-I, que respecto al CFASDD presenta notables variaciones en los factores que se codifican.

Interpretaciones de las claves.

Mediante subrutinas, independientes entre ellas y con el resto de la programación se lleva a cabo una traducción de las claves de acuerdo con las cuales la información inmunogenética es manipulada en el interior del ordenador.

Estas subrutinas patrones se encuentran almacenadas en elementos simbólicos de la cinta UZRV01. Son:

a) *Subrutina Cambio.* Lleva a cabo la transformación entre la clave CFASUD y la CFASDD.

b) *Subrutina Transf.* Transforma la clave CFASDD en clave laboratorial internacional (Código de la I.S.A.B.R.).

c) *Subrutina CANIPB.* Pasa la clave CANIPB a la nomenclatura patrón de las fracciones proteicas de los polimorfismos bioquímicos.

d) *Subrutina Listas.* Esta subrutina se utiliza para la impresión tabulada del fenotipo, a partir de la matriz de entrada con los factores codificados de acuerdo con la CFASDD.

Tratamientos estadísticos típicos.

Son:

a) *Subrutina Acumul.* Calcula, por acumulación, los factores necesarios para obtener los principales estadísticos muestrales, de hasta 28 series unidimensionales, en la subrutina ESTDIS. Son: $N \cdot \sum x$ y $\sum x^2$.

b) *Subrutina ESTDIS.* Calcula los parámetros principales de posición y dispersión de una serie unidimensional, previa formación de los sumatorios mediante la subrutina Acumul. Los parámetros calculados, sobre un máximo de 28 series, son los siguientes: media aritmética (\bar{x}), varianza (s^2), desviación típica (s), coeficiente de variación porcentual (c. v.), error típico de la media ($s \bar{x}$), valor máximo de la serie ($P \alpha = 0,05$) y valor mínimo de la serie ($P \alpha = 0,05$ (30)).

TABLA I. Equivalencias establecidas mediante la clave CFASDD.

<i>Sistema A</i>		O1'	41	<i>Sistema L</i>	
A1	01	O2'	42	L	76
A2	02	P'	43		77
A3	03	Q'	44	<i>Sistema M</i>	
D	04	Y'	45		
H	05	B''	46	M	78
Z'	06	G''	47		79
	07	H12	48		80
<i>Sistema B</i>		M12	49	<i>Sistema SU</i>	
B	08	M13	50		
G1	09	CU2	51	S	81
G2	10	CU4	52	U	82
G3	11		53	H'	83
I1	12	<i>Sistema C</i>		U'	84
I2	13			U2'	85
K	14	C1	56	H''	86
O1	15	C2	57	S''	87
O2	16	E	58	U''	88
O3	17	R1	59		89
Ox	18	R2	60	<i>Sistema Z</i>	
P1	19	W1	61	Z	90
P2	20	W2	62	Z+	91
Q	21	X1	63		92
T1	22	X2	64	<i>Sistema R' S'</i>	
T2	23	C'	65		
Y1	24	L'	66	R1'	93
Y2	25		67	R2'	94
A1'	26	<i>Sistema FV</i>		S1'	95
A2'	27			S2'	96
B'	28	F	68		97
D'	29	V	69	<i>Sistema T</i>	
E1'	30		70		
E2'	31		71	T'	98
E3'	32	<i>Sistema J</i>		<i>Sistema N'</i>	
F1'	33				
F2'	34	J	72	N'	99
G'	35		73		
I'	36		74		
I2'	37		75		
J1'	38				
J2'	39				
K'	40				

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

TABLA II. Equivalencias establecidas mediante la clave CEGS-1

<i>Sistema A</i>		G''	43	<i>Sistema L</i>	
A	01	F3	44	L	80
D	02	F4	45	-	81
H	03	F8	46	<i>Sistema M</i>	
Z'	04	F11	47	M	82
-	05	F16	48	M'	83
<i>Sistema B</i>		F18	49	M1	84
B1	06	F20	50	<i>Sistema SU</i>	
B2	07	H12	51	S	85
G1	08	M12	52	S''	86
G2	09	M13	53	U1	87
G3	10	CU2	54	U2	88
I1	11	CU4	55	U1'	89
I2	12	-	56	U2'	90
K	13	-	57	U''	91
O1	14	<i>Sistema C</i>		H'	92
O2	15	C1	58	H''	93
O3	16	C2	59	<i>Sistema Z</i>	
Ox	17	E	60	Z	94
P1	18	R1	61	Z+	95
P2	19	R2	62	<i>Sistema R'S'</i>	
Q1	20	W	63	R'	96
Q2	21	-	64	S'	97
T	22	X1	65	<i>Sistema T'</i>	
Y	23	X2	66	T'	98
A'	24	C'	67	<i>Sistema N'</i>	
B'	25	L'	68	N'	99
D'	26	F1	69	<i>Sistema FV</i>	
E1'	27	F2	70	F	75
E2'	28	F6	71	V	76
E3'	29	F10	72	<i>Sistema J</i>	
F1'	30	F15	73	J	77
F2'	31	-	74	-	78
G'	32	<i>Sistema FV</i>		-	79
I'	33	F	75	<i>Sistema J</i>	
J1'	34	V	76	J	77
J2'	35	<i>Sistema J</i>		-	78
K'	36	J	77	-	79
O'	37	-	78	<i>Sistema J</i>	
P1'	38	-	79	<i>Sistema J</i>	
P2'	39	J	77	<i>Sistema J</i>	
Q'	40	-	78	<i>Sistema J</i>	
Y'	41	-	79	<i>Sistema J</i>	
B''	42	-	79	<i>Sistema J</i>	

c) *Subrutina ACUMU2*. Calcula $\sum x$, $\sum y$, $\sum x^2$, $\sum y^2$, $\sum xy$, y n , de series bidimensionales. Se forman todas las parejas entre 7 series como máximo (21 parejas), para calcular el coeficiente de correlación, la regresión lineal y la ordenada en el origen, mediante la subrutina COREGR.

d) *Subrutina COREGR*. Calcula, entre series bidimensionales (x, y) , el coeficiente de correlación lineal de Pearson (r) , la regresión lineal (b_{xy}) y la ordenada en el origen (a_{xy}) (26).

e) *Subrutina STUDEN*. Efectúa la prueba t de Student, entre dos series, por el método de datos aislados (grandes y pequeños efectivos), a partir de los parámetros n , x , y s de ambas series (15).

f) *Subrutina HOMOGE*. Verifica la homogeneidad de una tabla de contingencia de NF filas y NC columnas, mediante la aplicación de la prueba de χ^2 cuadrado (14). Imprime, a su vez, la χ^2 cuadrado de homogeneidad y los grados de libertad.

g) *Subrutina PORCEN*. Contrasta la diferencia entre dos proporciones observadas, mediante la prueba t de Student o la puntuación tipificada z según el tamaño de la muestra (13).

Impresión de cuadros estadísticos.

A este grupo pertenecen las subrutinas AUXEST y AUXCOR, cuya principal misión es imprimir, en forma de tablas, los parámetros calculados por las subrutinas del apartado anterior.

a) *Subrutina AUXEST*. Acomoda los datos para que la subrutina STUDEN realice la prueba de comparación entre dos medias. Al mismo tiempo imprime los resultados.

b) *Subrutina AUXCOR*. Los objetivos de esta subrutina son: adecuar los términos calculados por la subrutina ACUMU2, presentarlos adecuadamente a COREGR e imprimir la tabla de correlación correspondiente.

Ordenación de datos.

La subrutina patrón ORDERE efectúa en sucesivas ejecuciones la ordenación de una matriz numérica real, ascendente o descendientemente. Esta subrutina permite una mejor utilización de la memoria de proceso; se consigue un menor tiempo de ejecución y no está sujeta a las limitaciones de la subrutina SORFOR del sistema (Boletín núm. 6 de la R. U. E.)*, que únicamente puede realizar 50 ordenaciones en un mismo pase.

Manejo de fechas.

En el control de las inmunizaciones y reactivos para la inmunogenética es necesario contabilizar el tiempo transcurrido desde su producción hasta el momento en

* (R. U. E.) Red de Usuarios Exteriores del Centro de Cálculo del Ministerio de Educación y Ciencia.

que se estudian sus detalles. Esta comunicación nos ha conducido a la necesidad de tener que manejar datos relativos a fechas, mediante bloques tipificados.

a) *Subrutina DATA*. Esta subrutina lee la fecha en el sistema, suministrada por la subrutina FECHA (Boletín núm. 8 de la R. U. E.), y la transforma, del formato alfanumérico A, al formato numérico entero I, para su tratamiento e interpretación en otros programas.

b) *Subrutina PERIOT*. Calcula el número de días existentes entre dos fechas teniendo en cuenta los años bisiestos, con la condición de que estas fechas sean posteriores al 1 de enero de 1900 y anteriores al 31 de diciembre de 1999.

Estudio detallado de la metodología específica.

Cabannes y Serain (12) pudieron demostrar en 1955 la existencia de tres tipos de hemoglobina en el ganado vacuno de Argel. La variación se debía a 2 alelos codominantes.

Un paso más lo dieron Smithies and Hickman de Toronto (33), y Aston (5) de Inglaterra, al descubrir de forma independiente en 1957, diferencias genéticas precisas en ciertas β -globulinas del suero de ganado vacuno. El determinismo genético de este polimorfismo, paulatinamente se ha ido perfilando hasta el estado actual que implica un locus con 5 alelos en las razas vacunas europeas.

Posteriores investigaciones, entre las que merecen destacar las de Ghane (21, 22, 23, 24, 25), Ashton (1, 2, 3, 4, 6, 7), Braend (8, 9, 10) y Kristjansson (29), han permitido que el número de polimorfismos séricos se haya ido ampliando de tal forma que un tratamiento o estudio genético del conjunto de todos ellos ha empezado a resultar un serio problema.

Aun cuando la mayoría de los polimorfismos bioquímicos a estudiar entra en la categoría de "cualitativos", el hecho de que en el ganado ovino existan unos polimorfismos (potasio y sodio eritrocitario), cuya identificación se realiza por análisis "cuantitativos", nos ha inducido a estudiar estos polimorfismos por separado, desde el punto de vista de una caracterización cuali o cuantitativa.

Polimorfismos cualitativos (RUN POLIMO).

El RUN POLIMO lleva a cabo un tratamiento genético-estadístico para estudiar, desde el punto de vista poblacional, cualquier carácter gobernado por un sistema genético con hasta 6 alelos (15 fenotipos posibles). El tratamiento se realiza a cuatro niveles: intra-rebaño, intra-ecotipo (entre rebaños), intra-razas (entre ecotipos) y entre razas. En cada ejecución de este programa se efectúa el cálculo de los parámetros genéticos de cada agrupación ganadera y se efectúan las correspondientes pruebas de homogeneidad y equilibrio génico, indicado en los módulos respectivos.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

Aunque la utilización del RUN POLIMO es absolutamente general, desarrollamos únicamente el caso de un *locus* gobernado con dos alelos (hemoglobina), ya que dentro de la estructura general del programa es posible utilizar los módulos más adecuados en función de cada caso.

La información se agrupa por rebaños de manera que cada ficha contiene la información correspondiente a un animal, que se perfora según el formato de ficha deseado. En nuestro caso se ha utilizado el f. f. p. PO-050, que contiene además la información correspondiente al RUN POTASI, que más tarde detallaremos.

A su vez cada elemento (un rebaño) va encabezado por cinco fichas que aportan datos para su identificación, que se perfora según el f. f. p. PO-020.

Otros formatos de entrada utilizados son el f.f.p. PO-001, el f.f.p. PO-010 y el f. f. p. PO-060, que normalizan la entrada de los parámetros que gobiernan el funcionamiento general del programa.

Se ha procurado desglosar al máximo la programación para que el tratamiento sea lo más amplio posible. La modularidad se ha conseguido mediante el desglose del programa en las siguientes subrutinas:

a) *Subrutinas patrones para varios programas: HOMOGE y PORCEN.*

b) Grupo de subrutinas que llevan a cabo el mismo tratamiento, pero cada una de ellas se utiliza en dependencia del número de fenotipos diferentes a estudiar (LISHEM Y GENOPS), de los formatos de entrada (LECTUR), o de la interpretación de las claves establecidas (HEMPS).

c) Subrutinas modulares de utilidad exclusiva en el Run Polimo y común al estudio de cualquier polimorfismo (CIGOTE y AUXHEM).

d) Programa principal de utilización absolutamente universal para cualquier polimorfismo. Coordina el resto de módulos para alcanzar los objetivos deseados.

El grupo de subrutinas LISHEM *tiene la misión de leer la información* y listar (opcionalmente) el fenotipo de cada animal que compone la población sometida a estudio. Se utiliza una subrutina Lishem diferente según el número de fenotipos que presenta el polimorfismo en estudio, que en el caso de la Hb es la subrutina Lishem-Tres. Para su adaptación a problemas concretos se auxilia de las subrutinas adecuadas de los grupos Lectur y Hemos.

Las subrutinas pertenecientes al *Grupo Genops* tienen la misión de calcular e imprimir los principales parámetros genéticos de cada agrupación. Son: número de fenotipos observados para cada tipo y total, frecuencias fenotípicas esperadas, número de fenotipos esperados, χ^2 -cuadrado de equilibrio génico, número de fenotipos observados y no esperados, frecuencias de heterocigotos y homocigotos, coeficiente *F* de consanguinidad, varianza, y error típico de las frecuencias génicas. Como en el

grupo anterior, existe una subrutina GENOPS según el número de fenotipos diferentes observados en cada polimorfismo. Para el caso de tres fenotipos (Hb) existe la subrutina GENOPS-Tres.

Por otra parte, el *grupo de subrutinas Lectur* auxilia al grupo LISHEM mediante la lectura de los datos de cada animal de acuerdo con el formato y criterio de perforación adoptado en los mismos, referida como expresión de la acción de un *locus* con diversos alelos, La subrutina LECTUR-050 es la encargada de leer la información de acuerdo con el f. f. p. PO-050.

El *grupo de subrutinas Hemos* tiene por objeto auxiliar al grupo LISHEM en la interpretación y recuento de los diferentes fenotipos del polimorfismo sometido a estudio en el RUN POLIMO. Se utiliza una subrutina diferente según la clave de interpretación de los fenotipos.

En cuanto a las subrutinas módulo:

a) *Subrutina CIGOTE*. Realiza comparaciones de porcentajes por parejas, mediante la utilización de la subrutina Patrón PORCEN. Compara las frecuencias de herocigotos y las frecuencias génicas.

b) *Subrutina AUXHEM*. Efectúa la prueba de homogeneidad global y por parejas entre las diferentes poblaciones ganaderas, definidas por un carácter cualitativo, mediante la utilización de la subrutina patrón HOMOGE.

Los formatos de escritura obtenidos mediante el RUN POLIMO son: los f.e. PO-010, PO-011 y PO-12, para listas de fenotipos de los animales; PO-020, parámetros genéticos; PO-030 y PO-040, dócima de homogeneidad; PO-050 y PO-060, comparación de frecuencias; y PO-070, para la indicación de fin de ecotipo, raza o final de proceso.

El elemento HBPO-050 es el elemento Start-Control, almacenado en la cinta UZRVO1, que contiene las instrucciones de control necesarias para la ejecución del RUN POLIMO, aplicado al estudio del carácter "hemoglobina", y con los datos perforados y codificados de acuerdo con el f. f. p. PO-050.

Polimorfismos cuantitativos (RUN POTASI).

El interés de estos polimorfismos, en los ganados ovino y caprino, deriva de las observaciones de Evans, al clasificar en dos tipos distintos el contenido en potasio y sodio de la sangre de oveja (17,18): HK (alto potasio) y LK (bajo potasio). El tenor elevado en potasio, HK, evoluciona entre 250 y 450 mg/100 (20). No obstante, así como Evans adscribe esta amplitud de variación a las comentadas anteriormente, Khattab (28) no establece claramente la diferencia entre los altos y bajos potasios. Esta disconformidad de criterios se evidencia cuando se estudia más detenidamente este polimorfismo. El hecho de que dentro de cada una de las clases fe-

notípicas haya una amplia variación de concentraciones de potasio, ha motivado que se hayan tratado de implicar algunos factores en estas variaciones (19, 31, 39).

En definitiva todas las variaciones se han resumido en los dos tipos mencionados más arriba, tratándose de un carácter mendeliano simple en donde HK sería recesivo, pero en el cual LK no es más que incompletamente dominante sobre HK, siendo esta característica de dominancia incompleta la causante de que no se haya emitido un juicio final sobre la división de los fenotipos "potasio eritrocitario". Esta es la motivación que nos ha inducido a elaborar el RUN POTASI, que permite establecer estimaciones conducentes a fijar las distribuciones del HK y LK.

El tratamiento que realiza el RUN POTASI es el siguiente:

a) Estudio acerca de la distribución de las series: valor hematocrito, K en sangre integral, eritrocitos y plasma, y Na en sangre integral, eritrocitos y plasma, si se adecuan a una distribución normal o no, y en caso positivo se calculan los principales parámetros de posición y dispersión, y en cada una de las series, sobre total de los datos, datos aberrantes y aberrantes superiores. El estudio del K y Na en sangre integral y plasma se realiza para ver si se comportan como distribuciones o como constantes fisiológicas, aunque no sea éste el objetivo principal. El cálculo de estos parámetros lo hemos basado en la tesis de que dada una distribución normal de animales con potasio LK, el cálculo de los datos aberrantes superiores nos indicará la serie de los HK, mientras que las no aberrantes indicará los LK, en las razas ovinas españolas, en las que la frecuencia de HK son muy bajas.

b) Cálculo de los coeficientes de correlación, regresión y ordenada en el origen (a partir de todos los datos, los aberrantes superiores, inferiores o no aberrantes). Nos permite establecer estimaciones más precisas de las distribuciones estudiadas.

c) Comparación de medias de los valores observados, de cada una de las características sanguíneas mencionadas, para, en última instancia, colegir estimaciones filogénicas.

Igual que en el RUN POLIMO el tratamiento se realiza a nivel de rebaño, ecotipo, raza y total.

La información que maneja el RUN POTASI se encuentra almacenada en elementos simbólicos de la cinta UZRV01. Son los mismos elementos que los descritos en el anterior Run. Además de los formatos f. f. p. PO-020, PO-050 y PO-060, se utiliza el f. f. p. K-001, que normaliza la entrada de los parámetros, y que regulan la lista de los datos brutos e indican qué porción de la distribución debe tenerse en cuenta en la comparación de medias.

La modularidad en el RUN POTASI, a nivel de programación, se ha conseguido mediante su desglose en los siguientes subprogramas:

a) Subrutinas patrón para varios subprogramas estadísticos (ESTDIS, ACUMUL, ACUMU2, AUXCOR, COREGR, AUXEST, STUDEN y ORDERE).

b) *Subrutina modular AUX*, que auxilia al programa principal POTASI en el listado de los datos de cada animal (f. e. K-020). Así mismo determina los elementos aberrantes de cada una de las series que se estudian.

c) *Programa principal POTASI*. Coordina el funcionamiento del resto de los módulos, para cubrir las metas fijadas al principio.

Además del f. e. PO-070, se obtienen los siguientes formatos de escritura: K-001, para imprimir las características de cada rebaño; K-020, para sacar la lista de las características de los animales; K-040, parámetros de posición y dispersión; K-050, tabla de correlación; y f. e. K-070, para expresar los resultados de las comparaciones medias.

El elemento de control Na-K recoge las instrucciones de control previas a la ejecución del Run Potasi.

Creación de archivos a partir de datos inmunogenéticos.

La importancia de la *creación y actualización* constante de los "archivos inmunogenéticos" deriva de las aplicaciones de la inmunogenética a la mejora animal (control de paternidad, estudios filogenéticos, determinaciones de consanguinidad, diagnósticos de monocigosis y Free-Martin, relaciones con caracteres productivos). Pretendemos concretar y exponer aquellos programas de archivos que nos van a permitir desarrollar en un futuro cada una de las finalidades genéticas. Estos archivos son:

a) Archivo de los datos correspondientes a las características inmunogenéticas detectadas en cada animal estudiado (elemento IDENTIFICAS de UZRV01).

b) Archivo de la dinámica de las inmunizaciones realizadas, para la fabricación de sueros reactivos (elemento INMUNIZAS de UZRV01).

c) Archivo de los datos correspondientes tanto a sueros como a reactivos obtenidos (elemento BANCO de UZRV01).

En los tres archivos, la información se encuentra almacenada en orden creciente según la clave laboratorial asignada al animal, inmunización o suero.

Las operaciones básicas en estos archivos son: formación y actualización, exteriorización de información y corrección de los errores de interpretación o perforación que se produzcan.

Los programas principales comunes a los tres archivos son:

a) *CARGAR*. Dirige la formación ordenada de los archivos.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

b) *PETICION*. Localiza una información almacenada en cualquier archivo y saca la lista de acuerdo con los formatos normalizados de cada caso.

c) *INSERTAR*. Localiza determinados registros en cualquiera de los tres archivos y corrige la información que allí se encuentra grabada. Imprime a su vez la ficha correspondiente, antes y después de la información.

d) *CLEAR*. Elimina de los archivos la información completa de un animal, un suero o una inmunización.

La actuación general de los programas principales comunes se encauza hacia el fichero y tipo de información deseada, intercalando la subrutina correspondiente del grupo de subrutinas necesario. Son:

a) *Grupo INPUT*. Captan estas subrutinas la información perforada según los correspondientes formatos, la ordenan y la entregan a la subrutina Sorfor, para su ordenación según la clave laboratorial. A este grupo pertenecen las subrutinas Input-Ident, Input-Inmuno e Input-Banco.

b) *Grupo FICHA*. Las subrutinas de este grupo imprimen la información existente en los archivos, correspondiente a un animal, una inmunización o un reactivo, en dependencia del Run que solicite sus servicios. Son: Ficha-Ident, Ficha-Inmuno y Ficha-Banco.

c) *Grupo READ9*. Leen estas subrutinas la información sin actualizar en los archivos formados, que se encuentran copiados en el Fastrand asignado de nombre interno9; Son READ9-IDENT, READ9-INMUNO Y READ9-BANCO.

d) *Grupo WRITE8*. Mediante estas subrutinas se graba la información actualizada en el Fastrand 8, con el formato de almacenamiento magnético correspondiente. Son: Write8-Ident, Write8-Inmuno y Write8-Banco.

Las subrutinas de estos grupos tienen el nombre del grupo, pero cada una de ellas se encuentra en elementos simbólicos de UZRV01 diferentes.

Como ya quedó dicho, los elementos Start-Control de este apartado deberán albergar llamadas al elemento Asignación, mientras que los elementos Fin-Control deben llamar al elemento Liberación. La función de los elementos de subcontrol es asignar las facilidades necesarias para la ejecución de los Runs con actualización de ficheros y para que la información actualizada ingrese de nuevo en la cinta, respectivamente.

Archivo IDENTIFICAS,

Contiene este archivo, para cada animal: identificación completa del individuo, de su padre y de su madre; fórmula eritrocitaria referida a los antígenos sanguíneos probados, tanto desde el punto de vista de su fenotipo como de su genotipo; poli-

formismos bioquímicos; caracteres productivos, que aunque en la actualidad no gocen aún de la tabulación necesaria, no presenta ningún inconveniente incorporarlos cuando se conozcan.

Se encuentra localizado este archivo en el elemento simbólico de la cinta UZRV01 de su mismo nombre. Cada individuo posee la información repartida en tres registros, de acuerdo con el f. a. m. ID-001.

Los formatos de entrada que utilizan los programas de este archivo, son:

a) F.f.p. ID-001, que tiene por objeto normalizar la perforación de la información de un animal, distribuida en cuatro registros:

1. Características del animal y de sus antecesores, si han sido probados (clave laboratorial, número de registro en el libro genealógico, raza, laboratorio, sexo).
2. Fenotipo del animal (sistemas A y B), según la clave CFASUD.
3. Fenotipo del animal (sistemas C, FV, J, L, M, SU, Z, R', S', T', y N').
4. Genotipo grupos sanguíneos y polimorfismos bioquímicos (hemoglobina, transferrina, albúmina, anhidrasa carbónica, amilasa, ceruplasmina y postalbúmina), según las claves CANIF y CANIPB, respectivamente.

b) El f. f. p. ID-002 se utiliza para la localización de un animal en el archivo.

Por otra parte, los formatos de salida, son: f. e. ID-001, para la impresión de la ficha inmunogenética individual; y f. e. ID-002, para la impresión de un resumen del fenotipo y genotipo de los animales del archivo.

Un programa específico de este archivo es R-IDENT, que tiene por objeto efectuar una lista resumida del fenotipo y genotipo de grupos sanguíneos y polimorfismos bioquímicos, de los animales que componen el archivo Identificas.

Los programas que basan su actuación en el archivo Identificas son:

a) CARGAS-IDENT. Introduce en el fichero la información inmunogenética de los animales que se van probando en el laboratorio. Se compone de los siguientes módulos: Carga-Ident y Fin-Ident (de control); Asignación y Liberación (de sub-control); Cargar, Input-Ident, READ9-Ident, Write8-Ident, Ficha-Ident, Cambio, Listas, Transf y Canipb (de programación).

b) PETIS-IDENT. Localiza la información inmunogenética de una serie de animales e imprime el f. e. ID-001, para cada uno de ellos. Se compone de: Petis-Ident (control); Petición, READ9-Ident, Ficha-Ident, Listas, Cambio, Transf y CANIPB (programación).

c) RESUM-IDENT. Exterioriza la información inmunogenética resumida de todos los animales. Participan de este Run: Resum-Ident (control); R-Ident, READ9-Ident, Cambio, Listas, Transf y CANIPB (programación).

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

d) **INSER-IDENT**. Corrige la información del fichero Identificas. Lo componen los módulos Inser-Ident y Fin-Ident (de control); Asignación y Liberación (de subcontrol); Insertar, READ9-Ident, Write8-Ident, Ficha-Ident, Input-Ident, Listas, Cambio, Transf y CANIPB (de programación).

e) **CLEAR-IDENT**. Elimina del fichero la información completa de un animal. Lo componen Clear-Ident y Fin-Ident; Asignación y Liberación; Clear, READ9-Ident y Write8-Ident.

Archivo INMUNIZAS.

Contiene la información precisa sobre el estado inmunitario de los animales inmunizados, características de los anticuerpos presentes, fechas de inmunización y tiempo transcurrido, es decir, todos los condicionantes necesarios para poder reazar con una máxima efectividad y un gran ahorro de tiempo un programa de inmunizaciones, orientado hacia cualquiera de los fines que se pretendan alcanzar. Este archivo se encuentra localizado en el elemento de su mismo nombre. Cada inmunización se encuentra grabada de acuerdo con el f. a. m. IN-001 y ocupa un registro.

Además del f. f. p. ID-002, los Runs de este archivo utilizan el f. f. p. IN-001, que normaliza, sobre ficha perforada, la información referente a una inmunización, efectuada para la obtención de sueros reactivos. Incluye este formato: la clave de la inmunización, del animal donador y receptor, fecha en que se realizó y factores que han reaccionado fuerte (título alto de anticuerpos en suero) y débilmente (título bajo de anticuerpos en suero), codificados según la clave CFASDD. Además, se incluye información de si se trata o no de una reinmunización.

Los formatos de escritura obtenidos son:

- a) F. e. IN-001, para la impresión de la ficha de inmunizaciones.
- b) F. e. IN-002, imprime el balance inmunitario de un animal, en el tiempo que se ha utilizado como donador de sueros para investigaciones inmunogenéticas.
- c) F. e. IN-003. Mediante este formato se normaliza la impresión del estado inmunitario del panel de donadores de suero (una línea cada animal).

Programas principales específicos de los Runs de este archivo son:

- a) **R-INMUNO**. Imprime una lista resumida del inventario inmunitario de una serie de animales, cuya información se encuentra almacenada en el archivo Inmunizas.
- b) **S-INMUNO**. Dirige la búsqueda e imprime la lista de la información correspondiente a la última inmunización realizada en una serie de animales.

Finalmente, en cuanto a la programación, la *subrutina SITUA* es la encargada de localizar en el fichero e imprimir la lista de la situación inmunitaria de los animales inmunizados.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

Los Runs que basan su actuación en el archivo INMUNIZAS son:

a) CARGA-INMUNO, que introduce en el archivo la información correspondiente a las inmunizaciones efectuadas. Se compone de los siguientes módulos: de control (Carga-Inmuno y Fin-Inmuno); de subcontrol (Asignación y Liberación); programados (Cargar, Input-Inmuno; Ficha-Inmuno, READ9-Inmuno, Write8-Inmun, Periot, Data y Transf).

b) PETIS-INMUNO es el encargado de identificar, en el archivo, la información referente a una serie de inmunizaciones. La impresión se hace de acuerdo con f. e. IN-001. Está compuesto de los módulos de control (Petis-Inmuno); de programación (Petición, Ficha-Inmuno, READ9-Inmuno, Periot, Data y Transf.).

c) RESUM-INMUNO. Imprime la lista resumen del historial inmunitario de los animales. Lo componen: Resum-Inmuno; Asignación; R-Inmuno, READ9-Inmuno, Data, Periot y Transf.

d) INSER-INMUNO. corrige la información almacenada en el archivo Inmunizas. Lo componen Inser-Inmuno y Fin-Inmuno; Asignación y Liberación; Insertar, Input-Inmuno, Fecha-Inmuno, READ9-Inmuno, Write8-Inmun, Transf, Periot y Data.

e) CLEAR-INMUNO elimina del archivo Inmunizas la información referente a una serie de inmunizaciones. Lo componen Clear-Inmuno y Fin-Inmuno; Asignación y Liberación; Clear, READ9-Inmuno y Write-Inmun. y Liberación; Clear, READ9-Inmuno y Write8-Inmun.

f) SITUA-INMUNO imprime una lista que expresa la situación inmunitaria de una serie de animales. Está compuesto por Situa-Inmuno; Asignación; S-Inmuno, Sitúa, READ9-Inmuno, Transf, Periot y Data.

Archivo Banco.

El elemento Banco de la cinta UZRV01 almacena la información de los sueros y reactivos obtenidos. Cada suero, mono o polivalente, posee la información distribuida en un registro, de acuerdo con el f. a. m. B-001.

Los formatos de entrada, utilizados para el control de este archivo, además del f. f. p. ID-002, son: f. f. p. B-001, que recoge la información de un reactivo o un suero, en el que se detalla la clave, los factores que posee, las claves de los animales receptor y donador que se han utilizado para su obtención, la fecha de fabricación, su origen, estado, volumen, título, observaciones y localización del mismo; F. f. p. B-003, ficha de parámetro, para indicar el concepto de ordenación al programa principal R-Banco.

Los formatos de escritura son:

- a) F. e. B-001, para la impresión de la ficha de sueros inmunes y reactivos.
- b) F. E. B-002. Mediante este formato se resume la información de todos los sueros existentes en Banco.
- c) F. e. B-003. Normaliza la impresión de los volúmenes gastados y residuales de cada suero.

Los programas principales específicos de los Runs de este archivo, son:

- a) R-BANCO, que tiene el objeto de efectuar una lista resumida y ordenada de los sueros almacenados en el archivo Banco.
- b) ACTUALIZAR. Actualiza las existencias de los sueros archivados, a partir de los datos referentes a los volúmenes gastados.

La *subrutina Lisban* es la encargada de normalizar la impresión resumida del contenido del archivo Banco, según f. e. B-002.

Los Runs que basan su actuación en el archivo Banco son:

- a) CARGA-BANCO. Introduce en el archivo Banco la información correspondiente a los sueros inmunes y reactivos que se han obtenido. Los módulos necesarios para su ejecución son: de control (Carga-Banco y Fin-Banco); de subcontrol (Asignación y Liberación); programados (Cargar, Input-Banco); READ9-Banco, Write8-Banco, Ficha-Banco, Periot, Transf y Data).

- b) PETIS-BANCO. Identifica, en el archivo, la información de una serie de sueros y procede a la impresión de la ficha de sueros inmunes y reactivos. Los módulos necesarios son: de control (Petis-Banco); de programación (Petición, Ficha-Banco, READ9-Banco, Periot, Transf y Data).

- c) RESUM-BANCO. Dirige la ejecución de la lista resumida y ordenada del contenido el elemento Banco. Los módulos necesarios son: de control (Resum-Banco); de subcontrol (Asignación); programados (R-Banco, Lisban, Transf y READ9-Banco).

- d) INSER-BANCO. corrige la información almacenada en Banco. Utiliza los siguientes módulos: de control (Inser-Banco y Fin-Banco); de subcontrol (Asignación y Liberación); de programas (Insertar, Input-Banco, Ficha-Banco, READ9-Banco, Write8-Banco, Periot, Transf y Data).

- e) CLEAR-BANCO elimina del archivo la información referente a una serie de sueros inmunes o reactivos. Intervienen en este Run los siguientes módulos: de control (Clear-Banco y Fin-Banco); de subcontrol (Asignación y Liberación); de programas (Clear, READ9-Banco y Write8-Banco).

- f) ACTUA-BANCO actualiza los datos acerca de las existencias en suero, a partir de los datos relativos a los volúmenes gastados. Utiliza los siguientes módulos:

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

de control (Actúa-Banco y Fin -Banco); de subcontrol (Asignación y Liberación); de programas (Actualizar, READ9-Banco, Write8-Banco, Data y Periot).

Determinación de las frecuencias de los factores antigénicos (Run FRECUENCIAS).

Sin lugar a dudas, uno de los primeros problemas que se plantean en un laboratorio de grupos sanguíneos es el de la *selección de los factores antigénicos que se piensa probar*.

La respuesta a este problema está condicionada a una serie de razones: finalidad que se persiga (identificación individual, comprobación de parentesco, estudios filogenéticos) y la raza vacuna con la que se piensa trabajar.

El Run FRECUENCIAS, además de dar una orientación segura hacia los antisueros que interesa obtener, permite predecir las posibilidades de éxito o fracaso, en cuanto a la respuesta inmunitaria frente a determinados factores antigénicos eritrocitarios, y así mismo elegir las razas más adecuadas, en los programas de inmunización en orden a la obtención de un determinado antisuero o reactivo.

Los elementos SISTEMA-n, de la cinta UZRV01, almacenan las frecuencias génicas de 10 razas vacunas (38). Cada uno de ellos contiene la información de un *locus* (n-sistema sanguíneo), mientras que la información de cada fenogrupa (alelo) ocupa un registro de acuerdo con el f. f. p. F-050, en el que especifica: sistema sanguíneo al que pertenece, número del fenogrupa, factores que posee (codificados según el CFASDD) y las frecuencias génicas en las 10 razas.

Otros formatos de entrada, utilizados en este Run, son los siguientes:

- a) F-010, para la entrada de los parámetros, número de razas y número de sistemas a estudiar.
- b) F-020, para introducir en el Run los nombres de las razas.
- c) F-030. Normaliza la entrada de las siglas identificadoras de los sistemas sanguíneos en estudio.
- d) F-040. Una ficha para cada sistema, en la que se especifican las claves (CFASDD) de los factores que interesa investigar.

El Run FRECUENCIAS se compone de los siguientes módulos:

- a) Subrutina patrón TRANSF.
- b) *Programa principal FRECUENCIAS*. Calcula las frecuencias antigénicas de los factores eritrocitarios, ordenados de mayor a menor, por sistemas y razas, a partir de las frecuencias observadas en cada fenogrupa.
- c) Elemento ANTIGENOS. Es el elemento Star-Control.

Los formatos de escritura obtenidos mediante el Run Frecuencias son: f. e. F-020 y F-030.

Elección de las parejas "donador-receptor" más idóneas, para la obtención de sueros-inmunes, de utilidad en estudios inmunogenéticos. (Run DONADORES).

Si a un animal dado, con una determinada fórmula eritrocitaria, se le inoculara sangre procedente de otro, así mismo con otra distinta fórmula antigénica eritrocitaria, reaccionará ante la inoculación de sangre creando anticuerpos contra aquellos antígenos eritrocitarios que no posee y que han sido inoculados parenteralmente (27,32).

Por lo tanto, en todo proceso de isoimmunización, el número de anticuerpos presentes en el suero-inmune producido será función del número de antígenos eritrocitarios que no posean en común, es decir, del número de antígenos en que difieran ambos animales.

En cualquier caso hay que elegir una pareja de animales que se diferencien en uno o varios antígenos eritrocitarios, según orientemos la inmunización a la obtención de un suero inmune mono o poliespecífico.

Si bien el proceso metodológico es fácil, el tiempo que ocupa la elección, cuando se tiene una numerosa población y se condiciona la "pareja" a que no se diferencien en más de 3-4 factores, es tan grande que la elaboración de este Run nos parece de gran ayuda, sobre todo cuando se pueden especificar una serie de condiciones.

En este mismo sentido, la elección de la pareja "donador-receptor" se hace todavía más difícil y más lenta cuando se tienen en cuenta *inmunizaciones anteriores*, por las que se sabe la respuesta y el estado inmunitario de un animal frente a determinados antígenos, y las *reacciones cruzadas* de las distintas fracciones antigénicas de aquellos anticuerpos producidos frente a antígenos que presentan subdivisiones lineales.

La información que utiliza el Run Donadores se encuentra almacenada en dos tipos de elementos. Son:

a) Datos referentes a *inmunizaciones realizadas con anterioridad*. Estos datos se encuentran almacenados en el elemento Inmunizas, en el que la información se halla grabada de acuerdo con la clave CFASDD. A su vez, existirán tantos elementos Inmunizas como claves CEGSn sean necesarias.

b) Para la información referente a los animales disponibles para la realización de *nuevas inmunizaciones*. Estos elementos son de carga estática y son: elemento Grupo (clave CFASDD) y elemento Grupo-1 (clave CEGS-1).

Los formatos de entrada que utiliza este Run son:

a) G-001, para normalizar la entrada al Run de los datos (elementos Grupo-n). Tabula este formato: la clave de la explotación a la que pertenece cada animal, clave

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

laboratorial del mismo y codificaciones acerca de los factores que posee. Se utiliza un registro (ficha) para cada animal.

b) G-010. Se usa para introducir al Run los parámetros que gobiernan el proceso (Número de explotaciones, de factores, de animales no considerados como receptores y de sueros a obtener; umbral móvil y superior (número de factores en el suero); gobierno de las listas del total de los animales, donadores y receptores, y para indicar si se tienen en cuenta las inmunizaciones anteriores y las subrutinas de los grupos Salida e Inmuno que se han intercalado, así como el número de días a partir de los cuales se considera que desaparece la inmunidad).

c) G-020, para la entrada de las claves de las explotaciones de las que se dispone para la realización de inmunizaciones.

d) G-030, para introducir las claves de los factores a tener en cuenta en la ejecución del Run.

e) G-040, para indicar los animales, que perteneciendo a las explotaciones indicadas en el f. f. p. G-020, no se puede disponer de ellos como receptores, por motivos diversos.

Los grupos de subrutinas ofrecen al Run Donadores la posibilidad de concebir una gran flexibilidad en la metodología a seguir en su ejecución. Estos grupos actúan a tres niveles:

a) En la fijación de los factores que poseen reacciones cruzadas entre sí. *Los subprogramas Block Data* son subprogramas especiales cuyo objetivo es asignar valores iniciales a variables, situadas en zonas comunes con nombre, indicando las claves CFASDD o GEGS, de los factores eritrocitarios que poseen todas las fracciones antigénicas de cada grupo de factores con reacciones cruzadas. Existen los módulos FACDIS y FACDIS-1, para las claves CFASDD y CEGS-1, respectivamente.

b) En el almacenamiento de la información inmunogenética de los animales a utilizar directamente por el programa principal SANGUINEOS4. *El grupo SALIDA* está formado por subrutinas cuya misión es dirigir el almacenamiento de las características inmunogenéticas de los animales que se ponen a disposición del Run Donadores. Las subrutinas de este grupo son:

SALIDA-CORE. El almacenamiento de la información se efectúa en memoria central, hasta un total de 300 animales.

SALIDA-AUX. El almacenamiento se efectúa en memorias auxiliares (ficheros 18 y 19), sin existir ningún límite previo en el número de animales.

c) En el almacenamiento del estado inmunitario de los animales que pueden ser utilizados como receptores. Las subrutinas del *grupo INMUNO* son programas cuyo objetivo es almacenar la información correspondiente al estado inmunitario de los animales receptores que son utilizados en este Run. Las subrutinas de este grupo son:

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

INMUNO-CORE. El almacenamiento de la información se lleva a cabo en memoria central, hasta un total de 100 animales.

INMUNO-AUX. El almacenamiento de los datos se efectúa en memoria externa (fichero 8), sin existir ningún límite previo en la cantidad de referencias inmunitarias de los animales receptores.

La programación del Run Donadores la componen, además de los grupos de subrutinas analizados, *el programa principal SANGUINEOS4*. Este programa obtiene parejas de animales donadores-receptores, para la fabricación de reactivos de utilidad en la investigación de grupos sanguíneos. Desglosa el tratamiento en las siguientes fases:

a) Lectura de parámetros y limitaciones, a través de los f. f. p. G-010, G-020, G-030 y G-040.

b) Lectura y edición de una lista y almacenamiento de las características del grupo de donadores y animales receptores.

c) Imprime la lista de las limitaciones impuestas, según el f. e. G-010.

d) Lectura, impresión en lista y almacenamiento de la situación inmunitaria del grupo de receptores, en el caso de que se quieran tener en cuenta las inmunizaciones realizadas anteriormente.

e) Proceso previo a la elección de las parejas donador-receptor, en cada suero. En esta fase se identifica el factor a obtenerse y se intenta elegir las parejas de donadores receptores, según la sistemática que se describe en la última fase. En un principio, el número de factores que puede poseer el suero debe ser inferior o igual al umbral móvil o de referencia, eliminándose las parejas que llevarían consigo la aparición de un número superior de factores. En el caso de que se obtengan menos de dos parejas, se saltan dos líneas en el f. e. G-001, y se eleva el umbral en una unidad, hasta conseguirse un mínimo de dos parejas. Si este umbral alcanza un valor más elevado que el umbral superior (que como el de referencia se especifica en el f. f. p. G-010), se cierra el ciclo para la obtención de este factor, imprimiéndose un mensaje indicativo.

f) Elección e impresión de las parejas más idóneas. La normativa es la siguiente:

Investigar qué factor eritrocitario debe poseer el animal donador, para la obtención del suero. El problema es diferente para los factores que no poseen fracciones antigénicas y los factores con fracciones diferenciadas. En este caso puede haber dos o tres fracciones. Así tenemos que para el caso de tres fracciones (Factor A):

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

Anticuerpo Antígeno	A ₁ (1)	A ₂ (1,2)	A ₃ (1,2,3)
A ₁ (1,2,3)	+	+	+
A ₂ (2,3)	-	+	+
A ₃ (3)	-	-	+

Buscar los animales donadores que posean este factor.

Por cada animal donador encontrado, buscar los animales receptores que posean las condiciones más idóneas para la obtención del antisuero.

En cada pareja que se forma, averiguar cuáles serían los sueros anti que se obtendrían.

Localizar en la subrutina Inmuno el estado inmunitario de cada animal receptor si procede su impresión.

Los formatos de salida obtenidos mediante el Run Donadores son:

a) G-001 normaliza la impresión de los resultados de cómputo obtenidos mediante el programa Sanguíneos4 ; las parejas de animales donadores-receptores más indicadas para la realización de inmunizaciones, con fines encaminados a la obtención de sueros reactivos. La elección final de la pareja más idónea para obtener cada reactivo, debe ser tomada por el personal del laboratorio de grupos sanguíneos, ya que el Run les ofrece una amplia gama de posibilidades, entre las cuales hay que elegir las que más se ajusten a las necesidades de cada momento.

b) G-010, para la impresión de las limitaciones impuestas.

c) G-020. Mediante este f. e. se imprime el fenotipo de los animales considerados por el Run.

d) IN-003, descrito anteriormente.

El Run Donadores puede ejecutarse en dependencia de la clave utilizada, de la impresión o no del f. e. G-020, de las inmunizaciones anteriores, del número de animales utilizados y del número de animales que están en período inmunitario. Únicamente se contemplan las posibilidades de ejecución del Run, cuando se utiliza el código CFASDD y se imprime el f. e. G-020, aunque éste puede ser eliminado perforando adecuadamente el f. f. p. G-010.

Los módulos que intervienen en el Run Donadores son:

a) Cualquiera de los módulos Start-Control: DonadoresCN, DonadoresAN, DonadoresCC, DonadoresAC, DonadoresAA y DonadoresCA. Cada uno de ellos se denomina igual que el Run, añadiéndole dos siglas, que indican:

Utilización de la subrutina del grupo de SALIDA:

C – SALIDA-CORE.

A – SALIDA-AUX.

Utilización de la subrutina del grupo INMUNO:

C – INMUNO-CORE.

A – INMUNO-AUX.

N – no se tienen en cuenta las inmunizaciones anteriores.

b) Módulo de subcontrol ASIGNACION.

c) Módulos programados: SANGUINEOS4, Facdis, Data, Listas, Transf, Salida-Core, Inmuno-Core, Salida-Aux, Situa, Periot y READ9-Inmuno.

Si se quiere utilizar cualquier otra clave será necesario intercalar los módulos Facdis y Transf. correspondientes. Así, en el caso del elemento DonadoresICA, significa que se ejecutará el Run con la clave CEGS-1, con menos de 300 animales en cómputo y, a su vez, con más de 100 animales receptores en período inmunitario.

La flexibilidad y facilidad de acomodación del Run Donadores a cada problema se ha conseguido mediante una extremada modularidad en la programación, de manera que únicamente se han programado las operaciones básicas y fundamentales. Su combinación permite, junto a otros módulos que pueden introducirse, resolver una amplia gama de problemas de esta índole, mediante una utilización racional y optimizada del ordenador.

Estudio de la compatibilidad entre los individuos estudiados y sus antecesores supuestos. (Run PARENTESCO).

La finalidad de este Run es la verificación de compatibilidad entre ascendencia-descendencia y la elaboración de los fenogrupos, a partir del fenotipo de grupos sanguíneos. No obstante, esta última finalidad no podrá realizarse hasta que se hayan probado varias descendencias de un solo toro con distintas hembras, que es cuando el Run dará los resultados esperados. Con todo, siempre podrá proporcionar la primera aproximación al problema que tratamos. En la medida que la compatibilidad haya sido verificada, el estudio podrá referirse no a los factores antigénicos, sino a los fenogrupos o genotipos correspondientes, que paulatinamente se podrán evaluar y codificar (CANIF).

La entrada de información a este Run se realiza mediante el f. f. p. PA-010. En él se normaliza la entrada de la información inmunogenética de los animales a

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

chequear. Deben perforarse dos fichas por animal, de manera que el f. f. p. PA-010a corresponde al f. f. p. ID-001b, y el f. f. p. PA-010b corresponde al f. f. p. ID-001c, vistos anteriormente.

También es posible captar la información directamente del archivo Identificas, si ésta se encuentra almacenada. Mediante la subrutina READ9-Ident se efectúa la entrada de información al Run Parentesco, a partir del archivo Identificas, transformándose adecuadamente el f. a. m. ID-001.

Otro f. f. p. es el PA-001, en el que se especifica la localización de la información (en el archivo o continuación) de cada uno de los animales (padre, madre, e hijo), así como los códigos laboratoriales y número de registro genealógico de cada uno de ellos.

El programa principal recibe el nombre de FILIACION, que está auxiliado por Listas, Cambio, Transf, READ9-Ident (según la modalidad de ejecución elegida) y las subrutinas módulo BUSCA y D036.

La subrutina BUSCA localiza la información deseada en el archivo Identificas, cuando se encuentra grabada. Por otra parte, la subrutina D036 localiza, si existe, un elemento en una matriz cuya dimensión es variable. El Run Parentesco se utiliza para verificar si algún factor antigénico perteneciente al hijo se encuentra a su vez entre los factores que configuran el fenotipo de su padre y de su madre.

El proceso del *programa principal de Filiación* se efectúa en cinco fases. Son:

a) Lectura de los datos a través de la unidad 5 (ficha perforada) y/o en el archivo Identificas, a través de la subrutina Busca, según los casos.

b) Transformación de las claves. La información inmunogenética penetra en Filiación codificada según el CFASUD. Para su utilización en el proceso de cómputo debe transformarse a la clave CFASDD, mediante la subrutina Cambio. Para ello se diferencian en los tres individuos, los *factores presentes* (codificaciones 2,3,4,5 y 6), los *factores ausentes* (codificación 0) y *factores dudosos* (codificación 1).

c) Impresión de la primera parte del f. e. PA-001. Se imprimen los fenotipos de los animales chequeados (factores presentes), mediante la subrutina Listas.

d) Dócima de filiación. Se sigue la siguiente normativa:

Cualquier factor del hijo debe existir al menos en uno de sus progenitores supuestos

En caso contrario se comprueba si está entre los factores ausentes del padre o de la madre. En caso afirmativo, el resultado será "incompatible". Si dicho factor pertenece al grupo de factores con reacciones cruzadas, y en el padre o en la madre existe algún factor del grupo, el resultado será "dudoso", a la espera de una definitiva comprobación laboratorial. El mismo resultado se obtiene si el factor se encuentra entre los "dudosos" del padre o de la madre.

Finalmente, si este factor no pertenece a ninguno de los casos examinados, significa que posee las codificaciones 7 u8 (ver clave CFASUD) y se integra con los "factores comunes" entre padre-hijo.

Resumiendo, los resultados posibles son:

Compatibilidad, cuando todos los factores del hijo aparecen también en el padre o en la madre.

Dudoso, para los siguientes casos: que los factores que se indican estén presentes en el hijo, pero no en los padres, aunque en éstos existan otros factores que pertenecen al mismo grupo antigénico con reacciones cruzadas; que dichos factores, presentes en el hijo, sean "dudosos" en alguno de sus padres.

Incompatibilidad, cuando un factor presente en el hijo no existe en sus padres, en ninguna de las formas posibles.

e) Determinación e impresión de los fenogrupos, en el caso de compatibilidad. En la última parte del f. e. PA-001 se imprimen los factores, que pueden pertenecer a *factores comunes* a los tres animales o integrarse en los *fenogrupos correspondientes* del padre, madre o hijo.

El elemento Star-Control de este Run es Parentesco.

Resumen.

Se plantea una gama de soluciones a problemas de inmunogenética que han surgido en la fase de iniciación del Laboratorio de Grupos Sanguíneos y Polimorfismos Bioquímicos, del Departamento de Genética y Mejora de la Facultad de veterinaria de Zaragoza. Se ha utilizado la instrumentación informática (Univac 1108, EXCEC-8 desde terminal remoto DCT 2000), mediante la programación en Fortran V. Los programas creados configuran un sistema cerrado, dúctil y eficaz, para la resolución de estos problemas. Especial hincapié se ha hecho en relación con la modularidad, ya que se han creado 139 elementos que se encuentran grabados en el mismo soporte (cinta magnética UZRV01), facilitándose la ejecución de los trabajos y permitiendo una normalización de los 22 Runs, algunos de ellos según diversas modalidades.

Las claves CFASUD, CFASDD, CANIF y CANIPB hacen asequible el lenguaje inmunogenético al lenguaje informático, permitiendo el manejo de la información inmunogenética en el interior del ordenador.

Los problemas inmunogenéticos resueltos son:

Estudio genético-estadístico de los polimorfismos bioquímicos, cuali y cuantitativos.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

Formación y actualización de archivos a partir de datos inmunogénéticos, que pueden utilizarse desde diversos Runs, permitiendo exteriorizar informaciones determinadas y corregir los errores de interpretación o de perforación.

Evaluación de cuántos y cuáles deben ser los factores que deban integrarse en el "panel de sueros reactivos" para la realización de la prueba inmunogénica.

Se soluciona el problema de la elección de las parejas más idóneas donador-receptor, con el fin de obtener sueros inmunes.

Se consigue una automatización de la prueba de parentesco, con evaluación final de fenogrupos.

Agradecimientos.

Deseamos expresar nuestro más sincero y profundo agradecimiento a todas aquellas personas que han colaborado en el desarrollo y elaboración de esta tesis. Muy especialmente al Prof. Dr. D. Isaiás Zarazaga Burillo, director de la presente tesis; al Prof. Dr. D. Francisco Cano Sevilla y al Prof. Dr. D. Miguel Vallejo Vicente, por las facilidades concedidas para la utilización del ordenador y por el apoyo y valiosos consejos recibidos, respectivamente; a D. Nestor Castañer Armengod, Srta. Rosa María Cristóbal Enguita y a la Srta. María del Carmen de Pablos Crespo, por su estimable colaboración.

Bibliografía.

1. Ashton, G. C. 1957.--Serum protein differences in cattle by starch gel electrophoresis. *Nature*, 180: 917.
2. -- 1958.-- A genetic Mechanism for protein polymorphism in cattle. *Nature*, 182: 65-66.
3. -- 1958b.--Beta-globulin polymorphism and early foetal mortality in cattle. *Natur*, 183: 404-405.
4. -- 1958c.--Further beta-globulin phenotypes in sheep. *Nature*, 182: 1101-1102.
5. -- 1958d.--Genetics of beta-globulin polimorphism in British cattle. *Nature*, 182: 370.
6. -- 1958e.--Polymorphism in the beta-globulins of sheep. *Nature*, Lond. 181: 849-850.
7. -- 1959.--Beta-globulin alleies in some Zebu-cattle. *Nature*, 182: 1135-1136.
8. Braend, M. 1964.--Genetic studies on serum transferrins in Reindeer. *Hereditas*, 52: 181-188.

ALTARRIBA: INFORMATICA E INVESTIGACION INMUNOGENETICA.

9. Braend, M. 1968.--Genetic variation of horse haemoglobin. *Hereditas*, 58: 385-392.
10. Braend, M. 1971.--Haemoglobin variants in cattle. *Anim. Blood Groups Biochem., Gent.* 2: 15-21.
11. Briones, F. 1969.--Fortran IV. Quintana, Madrid (15).
12. Cabannes, R. y C. Serain, 1955.--Etudes électrophoretiques des hémoglobines des mammifères domestiques d'Algérie. *C. r. Séanc. Soc. Biol.*, 149: 1193.
13. Dagnelie, P. 1969.--Theorie et methodes statistiques. (vol. 1 y 2) J. Duculot, S. A. Gembloux.
14. Dixon y Massey, 1969.--Introducción al análisis estadístico. Ediciones El Castillo, S. A. Madrid (15).
15. Downie, N. M. y R. W. Heath, 1971.--Métodos estadísticos aplicados.--Ediciones El Castillo, S. A. Madrid (15).
16. Dreyfus, 1972.--Fortran IV 5^{em} tirage. Dunod. París.
17. Evans, J. V. 1957.--The stability of the K concentration in the erythrocytes of individual sheep compared with the variability of different sheep. *J. Physiol.*, 136: 41-59.
18. Evans, J. V. 1961.--Differences in the concentration of potassium and the type of haemoglobin between strain and sexes of Merino sheep. *Aust. J. Biol. Sci.*, 14: 274-287.
19. Evans, J. V. 1963.--Inherited physiological individuality in ruminants. In, D. P. Cuthbertson (Ed). *Progress in nutrition and allied sciences*. Oliver and Boyd. Edimburg, pp. 199-212.
20. Evans, J; V., J. W. B. King, B. L. Cohen, A. Harris, & F. L. Warren 1956.--Genetics of haemoglobin and blood potassium concentration in the red blood cells of sheep. *Nature*, 176: 171.
21. Gahne, B. 1961.--Studies of transferrins serum and milk of Swedish cattle. *Anim. Prod.*, 3: 135-145.
22. -- 1962.--Recent studies on serum protein polymorphism in cattle. *Rep. 8th Europ-Conf. Anim. Bloods Groups*. Ljubiana (Mimeo).
23. -- 1963.--Inherited variations in the post-albumins of cattle serum. *Hereditas (Lund)*, 50: 126-135.
24. -- 1964.--Iso-antibodies against slow-globulin in cattle. *Hereditas (Lund)*, 51: 375-378.
25. -- 1965.--Biochemical genetics of domestic livestock. *Nord. Lordbr. Forsk.*, 47: 234-244.

26. Girault, M. 1967.—Elements de methodologie statistique. Dunod, París.
27. Johansson, I. y J. Rendel, 1972.—Genética y mejora animal. Editorial Acribia. Zaragoza.
28. Khattab, A. G., H. H. Watson, & R. F. E. Axford, 1964.—Genetic control of blood potassium concentration in Welsh Mountain sheep. *J. Agric. Sci.*, 63: 81-84.
29. Kristjanson, F. K., C. G. Hitckman, 1965.—Subdivision of the alele Tf^D for transferrins in Holstein and ayrshire cattle. *Genetics*, Austin, Tex., 52: 627-630.
30. Lison, L. 1968.—Statistique appliquée a la biologie expérimentale, la planification de l'expérience et l'analyse des résultats. Gauthier-Villars, París.
31. Meyer, H. V. 1963.—Verkemen und Verbreitung der Blutkalium Typen in deustchen Schafrassen. *Z. Tierzucht. Zucht. Biol.* 79: 275-182.
32. Roit, I. 1971.—Essential Immunology. Blacwell Scientif. Publications.
33. Smithies, O., C. G. Hickman, 1958.—Inherited variations in the serum proteins of cattle. *Genetics*, 43: 374-385.
34. Univac 100 series, Programmer reference, Fortran V, up-4060 Rev. 2.
35. Univac 1108 Exec-8. Basic Exec-8 Student Handbook BX 5397-0-3, FSD Education Dept. DPSM Programmer education seccion, 1970.
36. Univac 1108 System Description, Multi-Processor System. up-4046 Rev. 3.
37. Univac 1108 series, Operating System Programmer reference. up-4144. Rev. 3.
38. Weseli, D. T. 1974.—Blood Group System phenogroups in cattle. Mimeographed, by the courtesy of The Ohio State University, Departament of Dairy Science.
39. Zarazaga, I., M. Vallejo, A. Martínez, E. Monge, A. Rodero, R. Garzón y M. Herrera, 1973.—Heredabilidad y relación con el valor hematocrito de los niveles de potasio en ovejas. *Arch. zootec.* 22: 355-361.