

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

Sandra Bermeo‡, María Teresa Guerra*, Henry Ostos Alfonso***

FRECUENCIAS DE HLA-A, B Y DRB1 EN UNA POBLACIÓN DE HUILA-COLOMBIA

HLA-A, B and DRB1 frequencies in a population of Huila-Colombia

Fecha de recibido: 5 de marzo de 2010 • Fecha de aprobación: 29 de abril de 2010

Resumen. Realizar la descripción genética (frecuencias génicas [FG], genotípicas y haplotípicas) del sistema HLA (Human Leukocyte Antigen) en una población resulta de gran relevancia porque este conocimiento tiene implicaciones en áreas de la ciencia como en la antropología (migración, mestizaje, etc.), los trasplantes, transfusión de plaquetas, genética de las enfermedades, genética forense, desarrollo de vacunas de nueva generación, entre otras. Al finalizar una investigación en la que se determinan las frecuencias génicas o de otro tipo, éstas se deben comparar con las frecuencias estimadas previamente para la población local general, pero en muchos casos, como lo es en la población del sur de Colombia, estos datos no existen.

El significado que la caracterización poblacional tenga desde el punto de vista funcional y/o práctico depende de la perspectiva investigativa desde la cual se aborde; no obstante, resulta obligatorio iniciar la descripción de las frecuencias genéticas de la población, porque esta base de datos será de mucha utilidad en futuras investigaciones y permitirá hacer posteriores inferencias tras los hallazgos, sobre el comportamiento de las enfermedades a lo largo de la historia en la región.

El objetivo de esta investigación fue determinar las FG, genotípicas y haplotípicas de tres sistemas del comple-

jo HLA, previamente tipificados mediante reacción en cadena de la polimerasa, empleando cebadores de secuencia específica (PCR-SSP). Las FG HLA-A, B y DRB1 más frecuentes (>10%) fueron: A*24 (22%), A*02 (17%), B*35 (15%), B*44 (10%), DRB1*04 (18%) y DRB1*13 (11%). Todas ellas corresponden a los alelos más frecuentes reportados en poblaciones colombianas y latinoamericanas.

Palabras clave: antígeno leucocitario humano (hla de sus siglas en inglés), complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), frecuencias génicas (fg), reacción en cadena de la polimerasa con cebadores de secuencia específica (PCR-SSP de sus siglas en inglés).

Abstract. The performance of genetic description (gene frequencies (GF), genotype and haplotype) of the HLA (Human Leukocyte Antigen) system in a population, is of great importance because this knowledge has implications in areas of science and in anthropology (migration, miscegenation, etc.), transplantation, transfusion of platelets, genetic diseases, forensic genetics, development of new generation vaccines, among others. Completion of an investigation in determining gene frequencies or other, they should be compared with frequencies previously estimated for the general local population, but in many cases, as it is in South Colombian population, these data does not exist.

‡ Correspondencia: bermeos@hotmail.com, Fax: 578-8722162, Calle 9 # 14-03, Laboratorio de Medicina Genómica, Facultad de Salud, Universidad Surcolombiana, Neiva, Huila, Colombia.

* Investigador Asociado, Profesor catedrático.

** Profesor Titular, Facultad de Salud, Coordinador Laboratorio de Medicina Genómica, Universidad Surcolombiana.

The population characterization meaning from the functional and / or practical point of view depends on the research perspective from which it is addressed; however, it is compulsory to initiate the description of the population gene frequencies, since this data base will be very useful in further research and will allow to make later inferences after the findings about the behavior of the disease throughout history in the region.

The objective of this research was to determine the FG, genotype and haplotype of 3 sets of HLA complex, previously established by Polymerase Chain Reaction, with the use of specific sequence primers (PCR-SSP). The FG HLA-A, B and DRB1 most frequent (> 10%) were A*24 (22%), A*02 (17%), B*35 (15%), B*44 (10%) DRB1*04 (18%) and DRB1*13 (11%). All of them correspond to the most frequent alleles reported in Colombian and Latin American populations.

Key words: Human Leukocyte Antigen (HLA), Major Histocompatibility Complex (MHC), Gene Frequencies (GF), Polymerase Chain Reaction with Specific Sequence-Primers (PCR-SSP).

INTRODUCCIÓN

El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) se localiza en 6p21 y es considerado la familia de genes humanos más polimórfica (más de 200 genes, 4.556 alelos HLA a la fecha)⁽¹⁾, (Figura 1). Los haplotipos se heredan completos de forma mendeliana y se expresan de forma codominante, con frecuencias y distribuciones

que varían significativamente en los diferentes grupos étnicos⁽²⁾. Se cree que surgió como resultado de la presión que ejerció la evolución sobre los genomas, luego de requerirse gran variedad de moléculas especializadas en el reconocimiento y la presentación antigénica⁽²⁾, como primer paso en la activación de la respuesta inmune específica; debido a esta característica es un marcador molecular muy informativo.

Con la introducción de herramientas en biología molecular se dilucidó la secuencia de muchos tipos y subtipos de moléculas del sistema HLA, que antes no podían diferenciarse mediante serología o fueron tipificados erróneamente. Hasta el inicio de la década de los noventa este sistema tuvo gran auge en la antropología forense ya que era usado como marcador genético en las pruebas de filiación⁽²⁾; posteriormente fue reemplazado por otro tipo de marcador muy informativo como los STR (Short Tandem Repeat) y últimamente por los SNP (Single Nucleotide Polymorphisms).

El esclarecimiento de la función del sistema HLA como regulador del sistema inmune en la presentación y reconocimiento antigénico, dentro del grupo de moléculas codificadas por el CMH (Figura 2), y la determinación de su elevado polimorfismo, han sido las principales razones por las cuales ha aumentado el interés en realizar la descripción antigénica y el cálculo

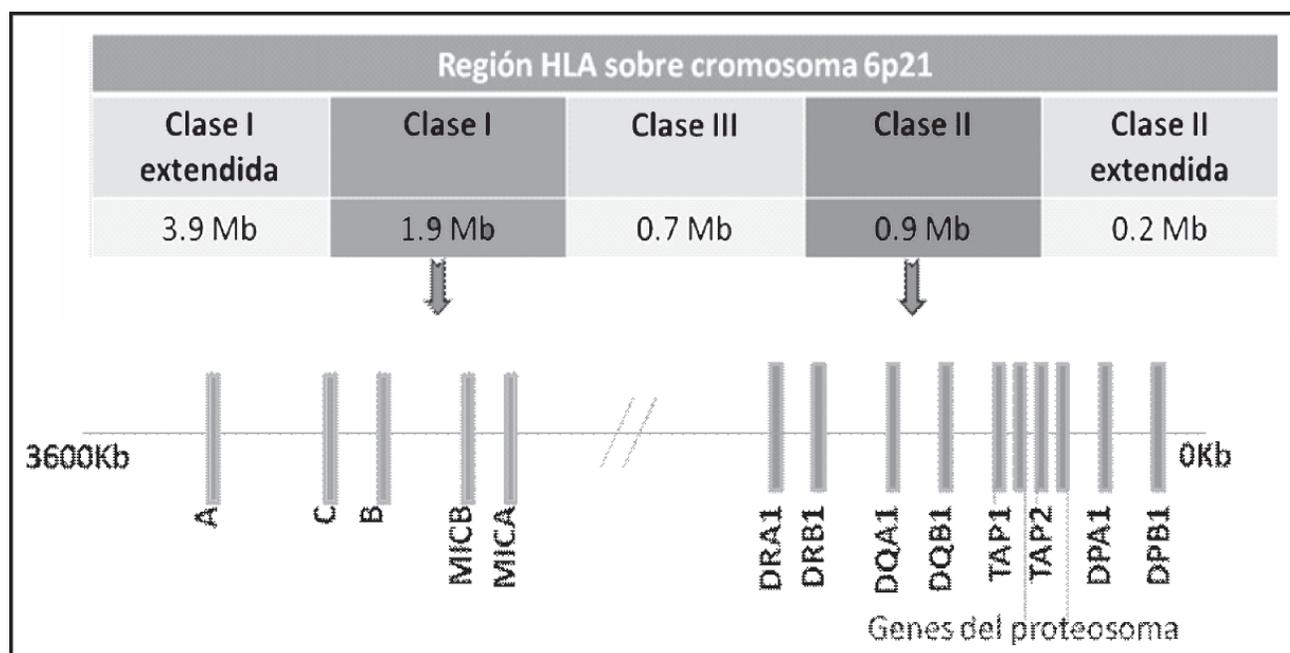


Figura 1. Organización de la superfamilia de genes del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH).

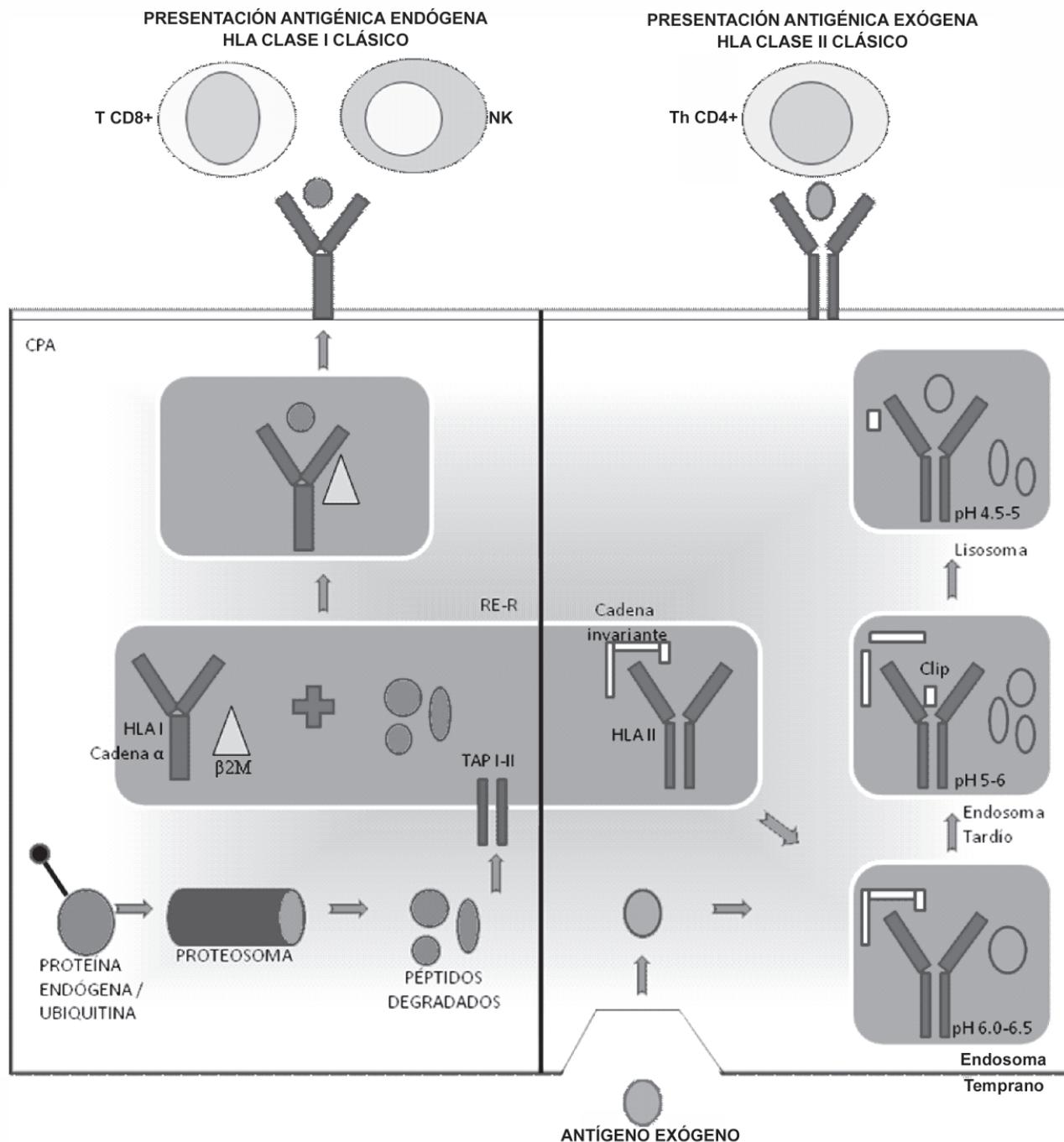


Figura 2. Moléculas HLA clase I y II, mecanismos y vías de presentación de antígenos.

lo de frecuencias de este sistema en muchas poblaciones, tras lo cual se ha determinado repetidamente un marcado desequilibrio de ligamiento⁽³⁾.

La descripción de los antígenos codificados por el sistema genético HLA de un individuo tiene en la actualidad y en nuestro medio gran importancia en la práctica de trasplantes de órgano como riñón, hígado, corazón, pulmón, visceral, etc., y

se realizan de forma rutinaria en los laboratorios de inmunogenética mediante técnicas de baja, media y alta resolución⁽⁴⁾. Esta información resulta muy útil en la búsqueda de donantes de órgano, ya que se puede estimar la probabilidad de hallar un donante compatible cuando se conocen las frecuencias alélicas y haplotípicas en la población. En el trasplante de órganos sólidos, sólo aquellos pacientes con frecuencias alélicas relativamente altas tienen mayor posibilidad de hallar

un donante no relacionado⁽⁵⁾. En el trasplante de médula ósea se requiere de un donante con compatibilidad máxima, el cual sólo puede ser encontrado empleando registros internacionales de donantes de médula⁽⁶⁾. Con los resultados de las frecuencias génicas estimadas para una población particular, se puede asesorar a estos pacientes sobre la probabilidad real de encontrar o no, donantes compatibles⁽⁵⁻⁷⁾.

Las frecuencias génicas y haplotípicas proporcionan una invaluable información acerca de la composición genética y el comportamiento de los genes en la población; dicha información resulta útil en estudios antropológicos que permiten inferir acerca del origen de la población y/o posibles mezclas con otras poblaciones^(2,8), se relaciona con fenómenos de predisposición genética⁽⁹⁾ (es decir ciertas enfermedades, especialmente las autoinmunes, ocurren con mayor frecuencia en individuos con ciertos alelos HLA) o resistencia a diversos padecimientos⁽¹⁰⁾ y con el entendimiento de los mecanismos moleculares responsables del desarrollo de las enfermedades.

La caracterización y la distribución de los genes HLA en la población huilense son totalmente desconocidas por lo que esta descripción constituye el primer acercamiento y fue el principal objetivo de este trabajo.

ASOCIACIONES HLA-ENFERMEDAD

La acción aunada de múltiples genes, especialmente del sistema HLA y de factores ambientales, entre otros, puede influir en el desarrollo de un grupo de patologías denominado multifactorial, ya que no siguen un patrón clásico de herencia mendeliana. La búsqueda de información para dilucidar los mecanismos moleculares etiopatogénicos de las enfermedades multifactoriales, y entre ellas especialmente las enfermedades autoinmunes, tiene gran auge en la actualidad ya que permite determinar la presencia de marcadores de riesgo ligados a la susceptibilidad de padecer la enfermedad y el hallazgo de un posible blanco terapéutico⁽⁹⁾. El estudio del sistema HLA como marcador polimórfico en el rastreo de genes candidatos, en diversas entidades autoinmunes, ha sido limitado a algunas poblaciones, y los resultados han sido algunas veces no concluyentes; además, no pueden ser extrapolados a otras poblaciones, ya que las frecuencias varían de manera importante entre regiones.

En la mayoría de las enfermedades autoinmunes es característica la expresión de moléculas HLA clase II sobre la superficie de células que normalmente no expresan ese tipo de moléculas, por lo que pueden "parecer" antigénicamente extrañas, lo cual produce su reconocimiento y rechazo por parte de las células asesinas naturales⁽⁹⁾.

No obstante, se realizan en la actualidad meta-análisis con ayuda de la epidemiología genética, que facilitan una extensa búsqueda de genes candidatos con el fin de obtener datos concluyentes y así poder hacer un diagnóstico oportuno de la susceptibilidad que tienen los individuos de padecer enfermedades o predecir su curso. Entre las patologías más estudiadas se encuentran: la artritis reumatoide^(9,11-14) (AR), AR idiopática juvenil, leucemia⁽¹⁵⁻¹⁷⁾, infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH)⁽¹⁰⁾, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)⁽¹⁸⁾, espondilitis anquilosante⁽¹⁹⁾, psoriasis (primera asociación HLA descrita en 1972 PSOR2 17q25), lupus, cáncer de pulmón, colitis ulcerativa, esclerosis múltiple⁽²⁰⁾, diabetes tipo I y II^(21,22), enfermedad celíaca, enfermedad de Graves, etc. Mencionamos aquí dos de las más estudiadas y estrechamente relacionadas con moléculas HLA, con la finalidad de ser el punto de partida en futuras investigaciones en el Laboratorio de Medicina Genómica de la Universidad Surcolombiana.

La artritis reumatoide (OMIM 180300) es una enfermedad autoinmune, crónica, poligénica y representa una de las asociaciones HLA/enfermedad más estudiada, especialmente con las moléculas clase II HLA-DRB1. Varios estudios señalan asociaciones contundentes a cierto tipo de moléculas HLA; por ejemplo, en América Latina se encuentran con frecuencias altas y semejantes los alelos DRB1*04:04 y FNT 308A; sin embargo, estos datos no coinciden cuando se buscan en otras poblaciones, causado probablemente por la acción de algunas variables como el tamaño de la muestra, la técnica usada, la heterogeneidad genética y los errores de tipificación o de análisis estadístico⁽¹²⁾. Varios grupos de investigación han realizado mapeos genéticos en búsqueda de loci representativos y sustentan que la región HLA es la principal región con marcada evidencia de ligamiento en esta enfermedad.

La espondilitis anquilosante (OMIM 106300) es una condición reumatológica inflamatoria crónica que afecta principalmente la espina y las articulaciones sacroiliacas. Ha sido casi por 40 años

la entidad genética con la más fuerte y evidente asociación con un marcador molecular que está presente en más del 90% de casos. Las moléculas B*27:01, B*27:04 y B*27:05 están asociadas con predisposición; por el contrario, las moléculas B*27:06 y B*27:09 parecen ofrecer protección⁽¹⁹⁾. De aquí la importancia de hacer tipificaciones de alta resolución, al nivel de cuatro dígitos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los pacientes fueron atendidos en el Laboratorio de Medicina Genómica de la Universidad Surcolombiana (Neiva-Huila), de abril de 2008 a diciembre de 2009; son en su gran mayoría pacientes que están o estuvieron en lista de espera para trasplante de riñón; provienen principalmente de la ciudad de Neiva, pero no han sido categorizados en el momento del análisis por sexo, edad, procedencia, ni enfermedad de base. En ningún caso se hizo estudio familiar, por lo cual no es posible asumir o confirmar los posibles casos de homocigosis.

Se tomó a 200 individuos no relacionados una muestra de sangre periférica anticoagulada con EDTA de la cual se extrajo ADN genómico, empleando el kit Taq DNA Polymerase Recombinant (Fermentas, Glen Burnie, MD, EUA). Se verificó la concentración mediante la emisión de fluorescencia en el fluorómetro QUBIT (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), y la calidad del ADN mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,2%. La caracterización genómica se hizo mediante amplificación del ADN por reacción en cadena de la polimerasa, empleando primer específico (PCR-SSP) con los kit All Set Gold HLA ABDR SSP (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) y ABDR SSPTRAY (Biotest, Rockaway, NJ, EUA), los cuales incluyen la mezcla de reacción lista y se le debe adicionar 100 ng de ADN y 0,3U de ADN polimerasa; el programa de amplificado es el propuesto por cada casa comercial y se realizó en un termociclador PTC-100 (MJ Research, South San Francisco, CA, EUA). El producto de PCR se confirmó mediante electroforesis en un gel de agarosa al 2% preparado en TBE 1X y corrido a 135V por 10 min en una cámara de electroforesis Gel XL Ultra V-2 (Labnet, Woodbridge, NJ, EUA); la tinción de los geles se hizo con EnVISION (Amresco, Solon, OH, EUA). La tipificación final se hizo de forma manual y con ayuda del software SSP-UniMatch 4.0 y el HLA-SSP Typing 1.1. Los datos obtenidos fueron tabulados y analizados con ayuda del programa GDA 1.1⁽²³⁾ y Arlequin 3.0⁽²⁴⁾.

RESULTADOS

Los pozos que presentaron amplificación positiva obtenida tras la electroforesis fueron ingresados en los programas Biotest HLA SSP Typing 1.1 y SSPUniMatch 4.0. En los casos en negativos para la tipificación con este método, se realizaron de forma manual empleando los formularios distribuidos por la casa comercial para tal fin. Además, se hizo necesario revisar las frecuencias del sistema previamente reportadas y en que se haya empleado la misma metodología, en Colombia⁽²⁵⁻²⁷⁾, Latinoamérica⁽²⁸⁻³⁸⁾ y el mundo⁽³⁹⁻⁴³⁾, y revisar el diccionario internacional de nomenclatura HLA que tiene como última fecha de actualización abril de 2010⁽⁴⁴⁾. Los resultados de las tipificaciones fueron ajustados al nivel de dos dígitos, de acuerdo con la metodología empleada (PCR-SSP), luego fueron tabulados y colocados en los formatos de lectura compatibles con los diferentes software de análisis estadísticos empleados.

Se obtuvieron 21 diferentes alelos A, 28 B y 13 DRB1, se estimaron las frecuencias alélicas o génicas mediante la estimación de máxima verosimilitud (Tabla 1). De igual forma, se obtuvieron las frecuencias genotípicas de un total de 69 diferentes genotipos A, 95 B y 67 DRB1, y se tabularon aquellas con frecuencias mayores a 1,9% (Tabla 2 y Figura 3). Las frecuencias haplotípicas al nivel de dos alelos fueron calculadas con el algoritmo de máxima probabilidad o expectación (EM) versión zipper, ya que no son estimadas como el producto de las frecuencias alélicas, porque se debe asumir que hay equilibrio de ligamiento; el DL o significancia de asociación entre todos los pares de loci se halló empleando una tabla de contingencia de 2x2 mediante la fórmula $D = p_{ij} - p_i p_j$; el DL corregido o normalizado se calculó teniendo en cuenta el máximo grado de desequilibrio y las frecuencias alélicas, y finalmente el estimativo de chi cuadrado χ^2 , empleando un test análogo a la prueba exacta de Fisher sobre una tabla de contingencia de 2x2, usando una versión modificada de la cadena de Markov (Tabla 3).

La heterocigosis esperada (He) por locus, la cual se presenta como un estimativo calculado al multiplicar la heterocigosidad esperada de la muestra $(1 - \sum_v p_v^2)$ por el factor $(2n)/(2n-1)$, la heterocigosis observada (Ho), y el estadístico Fis, índice de fijación "f" de Fisher o coeficiente de endogamia, con el programa GDA⁽²³⁾ (Tabla 4).

Tabla 1. Frecuencias alélicas del sistema HLA-A, B y DRB1.

A	Fr	B	Fr	DRB1	Fr
1	6,8182	7	5,8442	1	12,6623
2	17,2078	8	3,5714	3	4,5455
3	5,5195	13	0,974	4	18,5065
11	7,7922	14	6,8182	7	10,0649
23	4,5455	15	6,1688	8	5,1948
24	22,0779	18	3,2468	9	2,9221
25	1,6234	27	4,5455	10	1,9481
26	1,2987	35	15,5844	11	8,1169
29	7,4675	37	0,3247	12	2,9221
30	4,2208	38	2,9221	13	11,3636
31	3,5714	39	3,8961	14	9,4156
32	3,5714	40	7,7922	15	8,1169
33	3,8961	41	3,5714	16	4,2208
34	1,6234	44	10,3896		
36	2,5974	45	1,2987		
43	0,3247	48	3,5714		
66	0,974	49	0,6494		
68	3,5714	50	2,2727		
69	0,3247	51	7,7922		
74	0,6494	52	1,6234		
80	0,3247	53	1,2987		
		54	0,974		
		55	0,974		
		56	0,974		
		57	1,2987		
		58	0,974		
		59	0,3247		
		78	0,3247		

Se somborean en negrilla las frecuencias mayores al 5%. Fr= Frecuencia.

Tabla 2. Frecuencias genotípicas mayores a 1,9%.

HLA A		HLA B		HLA ABDRB1	
Genotipo	Fr	Genotipo	Fr	Genotipo	Fr
2 24	8,2	35 40	5,7	4 7	5,1
24 24	7,6	35 44	3,8	1 4	4,4
1 24	5,1	40 44	3,8	7 13	3,8
11 24	3,8	35 48	3,8	4 15	3,8
2 2	3,8	15 35	2,5	4 11	3,8
1 2	3,2	14 44	2,5	4 4	3,8
24 29	3,2	27 35	2,5	4 14	3,2
2 11	3,2	35 51	2,5	1 14	3,2
2 68	2,5	7 35	1,9	3 13	3,2
3 24	2,5	18 44	1,9	1 7	2,5
23 24	2,5	14 51	1,9	4 13	2,5
2 32	2,5	44 51	1,9	1 15	2,5
29 33	1,9	18 35	1,9	11 13	2,5
24 68	1,9	14 38	1,9	13 14	1,9
24 36	1,9	41 44	1,9	1 13	1,9
2 36	1,9	15 40	1,9	1 16	1,9
1 30	1,9			4 9	1,9
				10 13	1,9
				4 16	1,9
				7 11	1,9
				7 14	1,9
				7 7	1,9

Fr= Frecuencia.

Tabla 3. Frecuencias haplotípicas a nivel de dos alelos. Se muestran las frecuencias mayores al 2%. D: DL, D': DL corregido y χ^2 : chi cuadrado.

A/B	Frecuencia	D	D'	χ^2
24 35	6,7679	0,0141	0,1132	2,9563
02 51	4,2426	0,0018	0,0285	0,1127
11 35	3,3952	0,0069	0,0970	1,5659
29 44	3,3349	0,0048	0,0803	1,4047
24 40	2,9862	0,0046	0,0705	0,5552
02 35	2,5273	0,0108	0,0815	2,1443
02 44	2,3785	-0,0055	-0,3222	0,8202
24 44	2,1476	-0,0079	-0,3534	1,3799

A/DRB1	Frecuencia	D	D'	χ^2
02 04	5,6612	0,0155	0,1178	3,6711
24 04	5,2436	0,0010	0,0071	0,0122
24 14	4,5418	0,0114	0,1572	2,763
02 13	3,5118	0,0017	0,0181	0,0651
11 01	3,0834	0,0189	0,2679	13,5611
03 04	2,8706	0,0119	0,2512	5,3526
29 07	2,7341	-0,0010	-0,1304	0,0470
24 15	2,6729	0,0046	0,0739	0,5181
33 01	2,4061	-0,0049	-1,0	1,7965
01 11	2,0606	0,0037	0,0573	0,8492

B/DRB1	Frecuencia	D	D'	χ^2
35 04	4,7266	0,0153	0,1190	4,0329
44 07	4,1746	0,0044	0,0505	0,8473
14 01	3,3199	0,0239	0,4580	33,8644
07 15	2,8249	-0,0015	-0,3444	0,2077
51 04	2,5795	-0,0072	-0,5597	1,8828
40 04	2,4917	0,0050	0,0656	0,6702
48 04	2,3542	0,0100	0,3358	6,5201
35 01	2,1951	-0,0023	-0,1179	0,1279

Tabla 4. Estadística descriptiva de la población.

LOCUS	He	Ho	p	Fis
HLA-A	0,89448	0,96753	0,55113	-0,109022
HLA-B	0,93278	0,98052	0,05363	-0,032424
HLA-DRB1	0,89892	0,96753	0,97345	-0,88013

He: Heterocigosis Esperada, Ho: Heterocigosis observada, p = valor de probabilidad, Fis (f): Índice de fijación intrapoblacional de Fisher o coeficiente de endogamia.

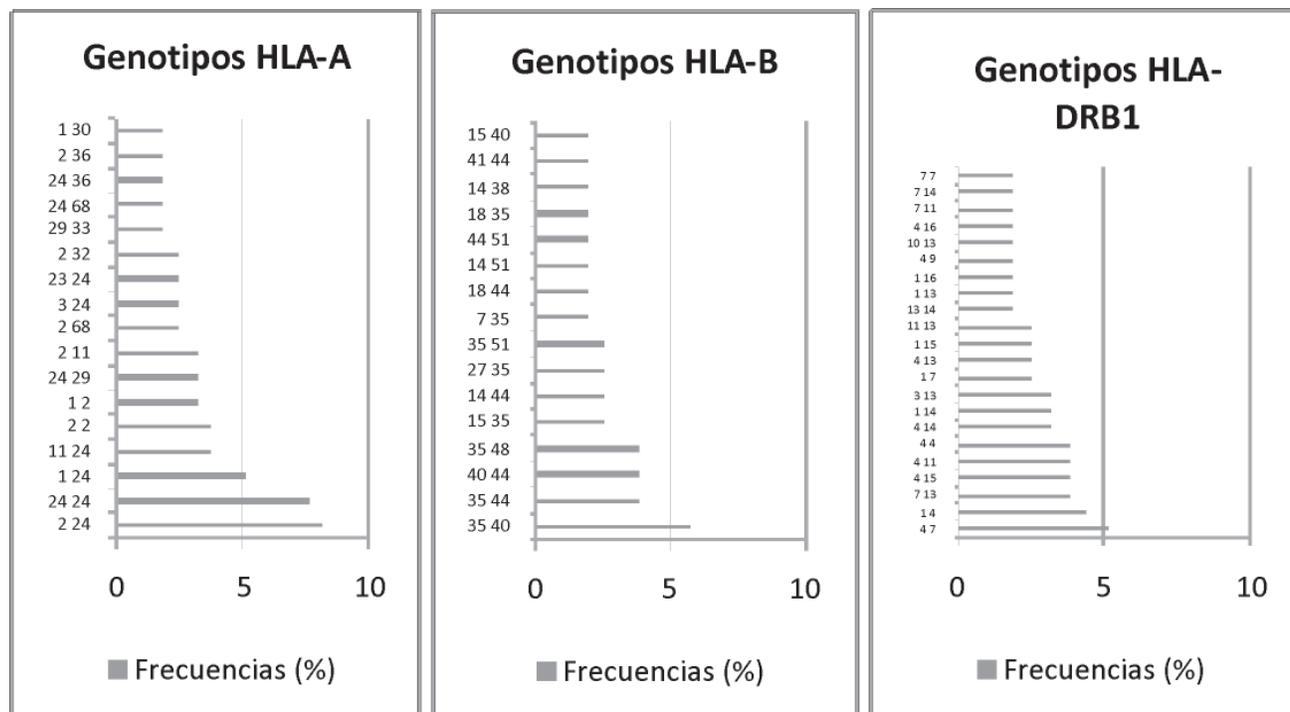


Figura 3. Frecuencias genotípicas de los sistemas HLA A-B y DRB1.

DISCUSIÓN

Aunque los genes no son específicos de una población, las frecuencias génicas entre poblaciones cambian por múltiples fenómenos. Se pensaría que poblaciones aisladas geográficamente y/o con arraigo cultural (religión, lenguaje, etc.) se pueden caracterizar, identificar y diferenciar genéticamente de otras poblaciones, ya que el nivel de endogamia es mayor que en la población general y la inmigración se ve disminuida por el difícil acceso, de hecho se han reportado genes HLA autóctonos, especialmente clase II. Pero los hechos indican lo contrario; por ejemplo, los grupos indígenas colombianos son muy heterogéneos, principalmente porque se han mezclado con poblaciones mestizas y negras durante los últimos 500 años⁽²⁾.

Aunque en nuestra población de estudio no se conoce el origen exacto de los individuos, se pudo estimar de forma general que la mayoría son oriundos del departamento del Huila, donde está registrado un alto índice de migración desde las áreas rurales y de departamentos vecinos, causado por fenómenos socio-políticos. La genética ancestral de la población huilense proviene de la mezcla de los escasos indígenas que quedaron en la región tras el exterminio por parte de los españoles que colonizaron el valle de *Neyva*

en el s. XVI y hasta finales del s. XVII, españoles y pobladores que migraron de otros departamentos como Putumayo, Tolima, Caquetá, entre otros. Lo anterior, aunado al elevado polimorfismo de la familia de genes en estudio, explica el hecho de encontrar la gran mayoría de alelos reportados en la población general.

Las frecuencias alélicas y otros estimativos estadísticos son obtenidos tomando como ciertas varias aseveraciones: asumir que los miembros de la población se reproducen al azar, es decir, sin consideraciones que influyan en la selección de la pareja, y que las principales fuerzas que direccionan la evolución (mutación, migración, deriva génica y selección natural) no han ejercido una presión definitiva que lleve a cambios trascendentales en el comportamiento de genes en la población. Otro factor que influye en el resultado del estimativo es el tamaño de la muestra, la cual debe ser lo suficientemente grande para que sea representativa de la población. A partir de estos estimativos se infiere por primera vez sobre las características genéticas de una población del sur de Colombia.

El análisis de comparación debe hacerse con aquellos reportes antigénicos a nivel de dos dígitos, para establecer similitud o diferencia⁽⁵⁾. Se observó que la población presenta un alto nivel polimórfico

debido al número de alelos encontrados. Las frecuencias alélicas más altas (>10%) son a A*24 (22%), A*02 (17%), B*35 (15%), B*44 (10%), DRB1*04 (18%) y DRB1*13 (11%) (Tabla 3). Todas ellas corresponden a los alelos más frecuentes reportados en poblaciones colombianas y de América Latina. La proporción de heterocigotos esperados (He) en los tres loci analizados, con respecto a los heterocigotos observados (Ho), se encuentra disminuida; este hecho le confiere una ventaja inmunológica al individuo frente a los agentes infecciosos. El coeficiente de endogamia (f) estima la frecuencia con que cada alelo está en forma heterocigota y el promedio en valores negativos indica la ausencia de endogamia por locus y en la población (Tabla 4).

Los haplotipos más frecuentes fueron A/B 24/35 (6,7%), A/DRB1 02/04 (5,6%), 24/04 (5,2%) y B/DRB1 35/04 (4,7%). También, como es de suponer, los alelos involucrados corresponden a los más frecuentes (Tabla 6), pero esta asociación, como es representativo del sistema HLA, muestra varios haplotipos en desequilibrio de ligamiento, el cual puede ser explicado por una de dos causas: que una población con alto grado de homocigosidad y con un bajo nivel de recombinación meiótica, no transfiere a la descendencia variabilidad de alelos, y que la selección actúe desfavorablemente en contra de algunos alelos o a favor de otros. El número de haplotipos posibles depende del número de loci considerados y del número de alelos de cada locus; así, para determinar una frecuencia representativa de la población, el muestreo debe ser mayor. Aún así, quedan sentadas las bases para dar inicio a los estudios de asociación HLA/artritis reumatoide y espondilitis anquilosante.

CONCLUSIONES

Se concluye que el tamaño de muestra objeto de este estudio es representativo de la población huilense y sus resultados son similares a los reportados para otras poblaciones colombianas. Pueden ser tenidos en cuenta para posteriores estudios del sistema HLA en la población, asumiendo la hipótesis de que la muestra fue obtenida al azar, que la distribución de los haplotipos en la población es homogénea y que las fuerzas evolutivas no son lo suficientemente grandes para desviar el equilibrio asumido y detectado con pruebas estadísticas convencionales.

Las frecuencias más altas en la región son similares a las que representan poblaciones caucaso-

des y son muy similares a la región colombiana que se toma como referencia, con algunas diferencias que de ninguna manera son representativas o caracterizan diferencialmente la población del Huila con respecto a otras.

El desequilibrio de ligamiento observado representa el índice del grado de mezcla y repoblamiento de la región analizada y se explica porque esta zona ha sido afectada por un fenómeno de migración forzosa no masiva pero sí constante, ya que ha sido víctima de un fenómeno de violencia social por más de 50 años.

RECOMENDACIONES

A mediano plazo es imprescindible hacer diagnóstico molecular mediante técnicas que ofrecen alta resolución y así garantizar la inclusión de todos los diferentes alelos de un grupo. De paso, el empleo de la tecnología de alta resolución como la luminometría facilita el estudio o rastreo de anticuerpos en pacientes a trasplantar de forma cualitativa y cuantitativa en la misma plataforma; de hecho, cualquier medición biológica puede ser implementada ya que es una plataforma abierta.

El siguiente paso tras el hallazgo de un estimativo de las frecuencias del sistema HLA en la región, se encaminaría en tres líneas de investigación: 1) análisis de las frecuencias del sistema HLA en comunidades indígenas con asentamiento en la región, 2) búsqueda de mecanismos moleculares que retarden o prevengan el rechazo de los injertos y 3) estudio de las asociaciones HLA-enfermedad, empezando por aquellas que tienen mayor impacto en la sociedad, como la diabetes y la artritis. Adicionalmente, en la línea de trasplantes se puede empezar el estudio de otro tipo de moléculas diferentes al HLA; por ejemplo, KIR, asociadas al proceso inmune de rechazo/tolerancia.

SOPORTE FINANCIERO

Vicerrectoría de Investigación y Proyección Social, Universidad Surcolombiana, Neiva, Huila.

REFERENCIAS

1. Robinson J, Mistry K, McWilliam H, *et al.* The IMGT/HLA database. *Nucleic Acids Research*. 2011;39Suppl:D1171-6.

2. Arango A y Camacho G. La antropología genética de la población colombiana. *Revista Exhumar* 2005;2:66-78.
3. Alper C, Larsen C, Dubey D, *et al.* The haplotype structure of the human major Histocompatibility complex. *Human Immunology* 2006;67:73-84.
4. Tinckam K. Histocompatibility Methods. *Transplantation reviews* 2009;23:80-93.
5. Zachary A and Steinberg A. Statistical analysis and applications of HLA population data. *Transplantation Immunology and Immunogenetics* 2005;144:1132-1140.
6. Bengochea M, Álvarez I, Hidalgo P, *et al.* HLA-A, -B, -DR en receptores de trasplante de médula ósea de Uruguay. *Revista Médica del Uruguay* 2003;19:149-158.
7. Grunebaum E, Roifman C. Bone marrow transplantation using HLA-matched unrelated donors for patients suffering from severe combined immunodeficiency. *Immunology and Allergy Clinics of North America* 2010;30:63-73.
8. Barzuna L. Determinación de HLA en estudios de poblaciones y migraciones humanas. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños* 2003;38(1-2):16-19.
9. Gough S and Simmonds M. The HLA region and autoimmune disease: Associations and mechanisms of action. *Current Genomics* 2007;8:453-465.
10. Price P, Keane N, Stone S, *et al.* MHC haplotypes affect the expression of opportunistic infections in HIV patients. *Human Immunology* 2001;62:157-164.
11. Garavito G, Iglesias A, Egea E, *et al.* Una aproximación al significado biológico del polimorfismo del complejo mayor de histocompatibilidad. El modelo de la asociación HLA y ARJ. *Salud Uninorte* 2002;16:53-72.
12. Delgado A, Martín J, Granados J y Anaya J. Epidemiología genética de la artritis reumatoide. ¿Qué esperar de América Latina? *Biomédica* 2006;26:562-584.
13. Lemire M. On the association between rheumatoid arthritis and classical HLA class I and Class II alleles predicted from single-nucleotide polymorphism data. *BMC Proceedings* 2009;3:S33.
14. Garavito G, Malagón C, Ramírez L, *et al.* Polimorfismo de los alelos de los antígenos de leucocitos humanos HLA DRB1 y su asociación con la artritis reumatoidea juvenil en una muestra de niños mestizos colombianos. *Biomédica* 2003;23:254-262.
15. Morera L, Marsan V, Villaescusa R, *et al.* HLA y leucemias. Estudio de 144 casos. *Revista Cubana de Hematología Inmunología y Hemoterapia* 1997;13:27-37.
16. Villalobos C, Rivera S, Weir-Medina J, Hassanhi M, Montiel M, González R. Asociación HLA clase I y leucemia en pacientes mestizos del estado de Zulia, Venezuela. *Investigación Clínica* 2003;44(4):283-290.
17. Morera L, Marsan V, Guerreiro A, *et al.* Estudio de los haplotipos en leucemias. *Revista Cubana de Hematología Inmunología y Hemoterapia* 1997;13:153-157.
18. Canonicos Y., Larocca N., Moreno D., De Sanctis JB. HLA y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). *RFM* 2008;31(2):111-115.
19. Martínez J, Navarrete A, Arrazola A, Suárez A, Zonana-Nacach A, Camargo A, *et al.* Subtipos de HLA-B27 en familias de pacientes mestizos mexicanos con espondilitis anquilosante. *Revista Mexicana de Medicina Transfusional* 2008;1:18-22.
20. Rojas O, Rojas A, Cruz P, *et al.* HLA Class II polymorphism in Latin American patients with multiple sclerosis. *Autoimmunity Reviews* 2009;9:407-413.
21. Caputo M, Cerrone G, López A, *et al.* Genotipificación del gen HLA DQB1 en diabetes autoinmune del adulto. *Medicina (Buenos Aires)* 2005;65:235-240.
22. Asenjo S, Gleisner A, Pérez F. Marcadores genéticos (HLA) y perfil de auto-anticuerpos en una familia mapuche con un caso de diabetes tipo I. *Revista médica de Chile* 2004;132:47-50.
23. Lewis P and Zaykin D. 2001. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis

- of allelic data. Version 1.1. En: <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>. Consulta: noviembre de 2010.
24. Excoffier, Laval L, Arlequin SS. ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics* 2005;1:47-50.
 25. Fuentes A, Gil P, Potou R, Ossa H. Frecuencias génicas del sistema HLA clase I y II en una población de la ciudad de Bogotá, D. C. En: <http://www.monografías.com/trabajos12/arthla/arthla.shtml?monosearch>. Consulta: 5 octubre de 2010.
 26. Ossa H, Manrique A, Quintanilla S y Peña A. Polimorfismos del sistema HLA (loci A*, B* Y DRB1*) en una población colombiana. *NOVA* 2007;2:25-30.
 27. Rodríguez L, Giraldo M, García N, Velásquez L, París S, *et al.* Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas HLA-A, HLA-B, HLA.DRB1 en donantes fallecidos, Medellín, Colombia. *Biomédica* 2007;27:537-547.
 28. Acuña V, Silva B, Castillo M, Granados J. Variación del HLA-B en poblaciones mexicanas. *Bioquímica* 2006;31(2):49-58.
 29. Echeverría M, Rivera S, Hassanhi M, *et al.* Alelos del complejo principal de histocompatibilidad clase II DRB1*/ DQB1* de la población Wuayúu de la Guajira venezolana. *Opción* 2008;24:44-66.
 30. Rivera S, Weir-Medina J, Echeverría M, *et al.* HLA en la población zuliana de Venezuela. *Inmunología* 1998;17:137-145.
 31. Alfaro E, Dipierri J, Gutiérrez N, Vullo C. Frecuencias génicas y haplotípicas del sistema HLA en el Noroeste Argentino. *Antropo* 2004;6:15-23. *Revista de Antropología Física*.
 32. Cao K, Hollenbach J, Shi X, Chopek M, *et al.* HLA-A, -B and -Cw allele frequencies in a Hispanic population from the USA. *Human Immunology* 2004;65:1206-1208.
 33. Morales J, Jaime J, Mancías C, *et al.* Diversidad de antígenos leucocitarios humanos A, B, DQB1 y DRB1 en células de sangre de cordón umbilical criopreservadas en el Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González. *Medicina Universitaria* 2006;8(33): 212-219.
 34. Rivera S, Hernández R, Hassanhi M, *et al.* Caracterización molecular de los antígenos HLA-CLASE I de la población Barí del estado de Zulia. *Ciencia* 2004;12(4):258-268.
 35. Paradoa M, Middleton D, Acosta A, *et al.* Genes HLA en una muestra de la población cubana. *VacciMonitor* 2000;3:1-5.
 36. Di Lonardo A, Colica M, Cabeller S, *et al.* Análisis molecular de los polimorfismos del sistema HLA clase I y clase II en la población argentina. *Revista Aragonesa de medicina legal* 2002;4:275-278.
 37. Morera L, Ustáriz C, García M, *et al.* Frecuencia de antígenos HLA en la población cubana, según características étnicas. *Revista Cubana de Hematología Inmunología y Hemoterapia* 2005;1(2).
 38. Morera L, Ustáriz C, García M, Hernández A, Díaz N, Lam R, *et al.* Frecuencia fenotípica y génica de los antígenos HLA en una muestra de la población cubana. *Revista Cubana de Hematología Inmunología y Hemoterapia* 2005;21(3).
 39. Collins M, Tang T, Slack R, *et al.* The relative frequencies of HLA-DRB1*01 alleles in the major US populations. *Tissue Antigens* 2000;55:48-52.
 40. Williams F, Meenagh A, Darke C, *et al.* Analysis of the distribution of HLA-B alleles in populations from five continents. *Human Immunology* 2001;62:645-650.
 41. Middleton D, Williams F, Meenagh, A *et al.* Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents. *Human Immunology* 2002;61:1048-1052.
 42. Robinson J, Waller MJ, Parham P, *et al.* IMGT/HLA and IMGT/MHC: Sequence databases for the study of the major Histocompatibility complex. *Nucleic Acids Research* 2003;31:311-314.
 43. Middleton D, Menchaca L, Rood H, *et al.* New allele frequency database. *Tissue Antigens* 2003;61:403-407.
 44. Marsh S, Albert E, Bodmer W, *et al.* Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens* 2010;75:291-455.



POSGRADOS CLÍNICOS

ESPECIALIZACIÓN EN ANESTESIOLOGÍA Y REANIMACIÓN

Registro ICFES No. 111456170964100111100

Creada mediante acuerdo Consejo Superior Universitario No. 029 del 08-1996

Denominación Académica: Programa de Especialización en Anestesiología y Reanimación
Modalidad: Presencial - Mixta (Diurna y Nocturna)
Duración: 3 años (6 semestres)
Cupos: 2 Anuales
Título: Especialista en Anestesiología y Reanimación

ESPECIALIZACIÓN EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

Registro ICFES No. 111456180000014111400

Creada mediante acuerdo Consejo Superior Universitario No. 036 del 29-05-1996

Denominación Académica: Programa de Especialización en Ginecología y Obstetricia
Modalidad: Presencial - Mixta (Diurna y Nocturna)
Duración: 3 años (6 semestres)
Cupos: 2 Anuales
Título: Especialista en Ginecología y Obstetricia

ESPECIALIZACIÓN EN MEDICINA INTERNA

Registro ICFES No. 111456160004100111400

Creada mediante acuerdo Consejo Superior Universitario No. 037 del 29-05-1996

Denominación Académica: Programa de Especialización en Medicina Interna
Modalidad: Presencial - Mixta (Diurna y Nocturna)
Duración: 3 años (6 semestres)
Cupos: 1 Anual
Título: Especialista en Medicina Interna