

# **FRECUENCIA ALÉLICA Y GENOTÍPICA DE HLA-B Y HLA-B\*27 EN UN GRUPO DE INDIVIDUOS SANOS EN COLOMBIA**

Por

NATALIA ANDREA HERNÁNDEZ BOCANEGRA

Proyecto de investigación para optar al título de bacterióloga y laboratorista clínico

Asesora Externa

MARÍA CONSUELO ROMERO SÁNCHEZ, MSc, PhD.

LEIDY LORENA CHILA MORENO, Bcl, MSc.

Asesora Interna

ALEJANDRA DEL PILAR INFANTE CRUZ, MSc.

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO

BOGOTÁ D. C.

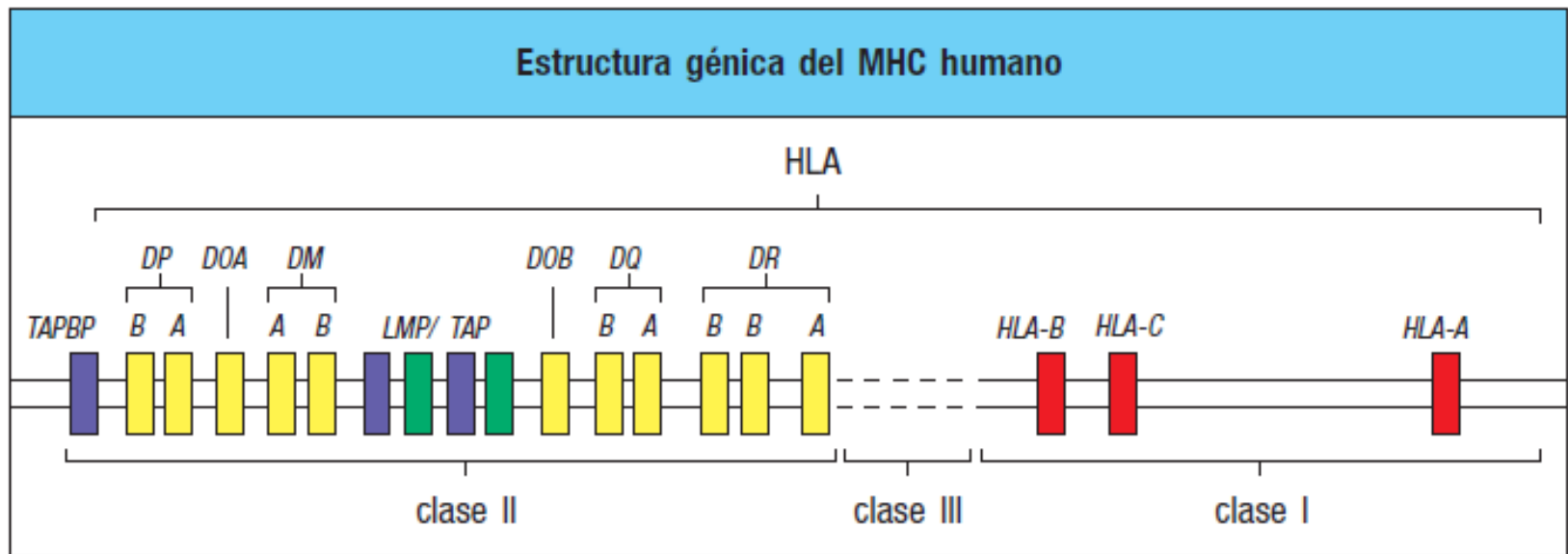
2019



# INTRODUCCIÓN

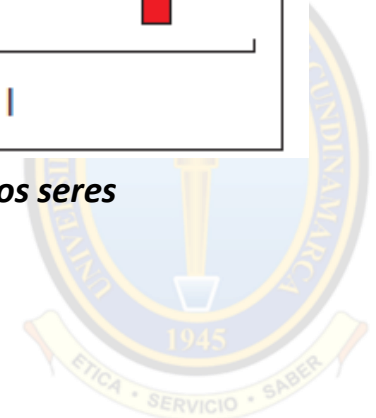


En la respuesta inmune se reconocen antígenos que se presentan sobre las superficies celulares derivados de agentes patógenos. Estos péptidos son llevados a la superficie celular por glucoproteínas especializadas de las células hospedadoras, las moléculas de MCH.



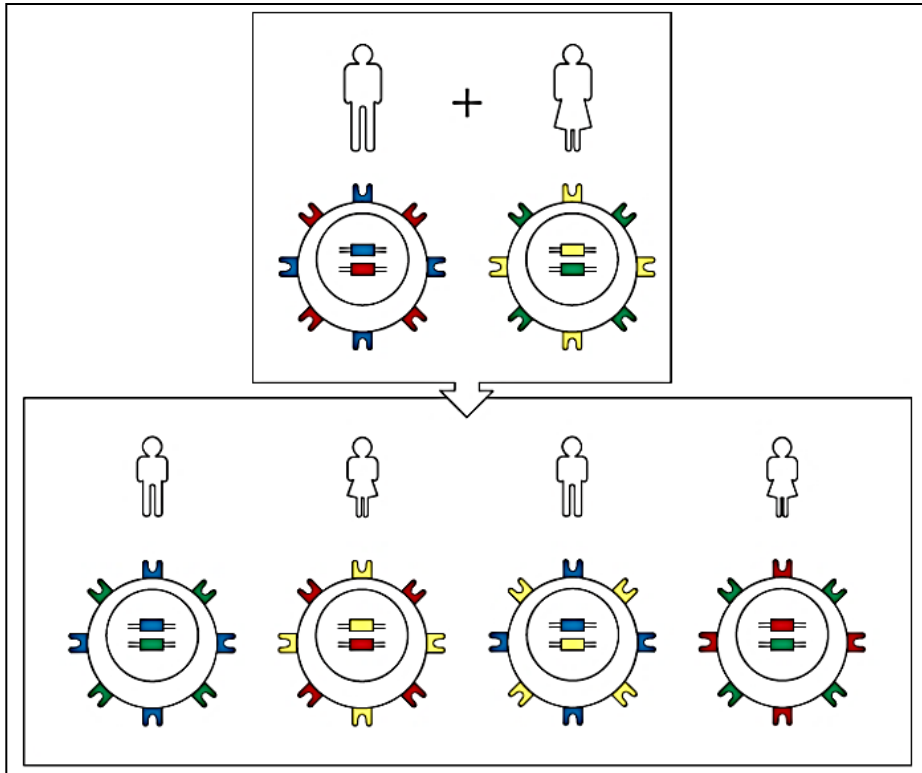
**Organización genética del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) en los seres humanos**

Murphy Kenneth, Travers Paul WM. Inmunobiología de Janeway. 2009. 197–205 p



El HLA se encuentra en equilibrio genético

**LEY DE HARDY WEINBERG**



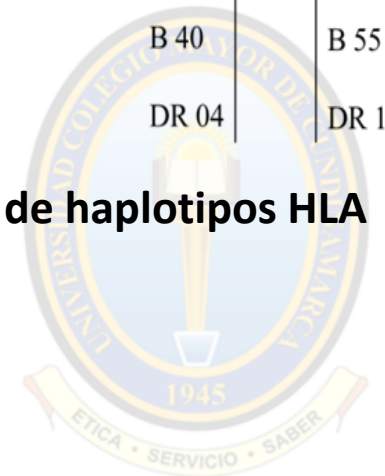
(Padre)		(Madre)	
a	b	c	d
A 11	A 68	A 02	A 02
B 55	B 40	B 55	B 42
DR 14	DR 04	DR 15	DR 03

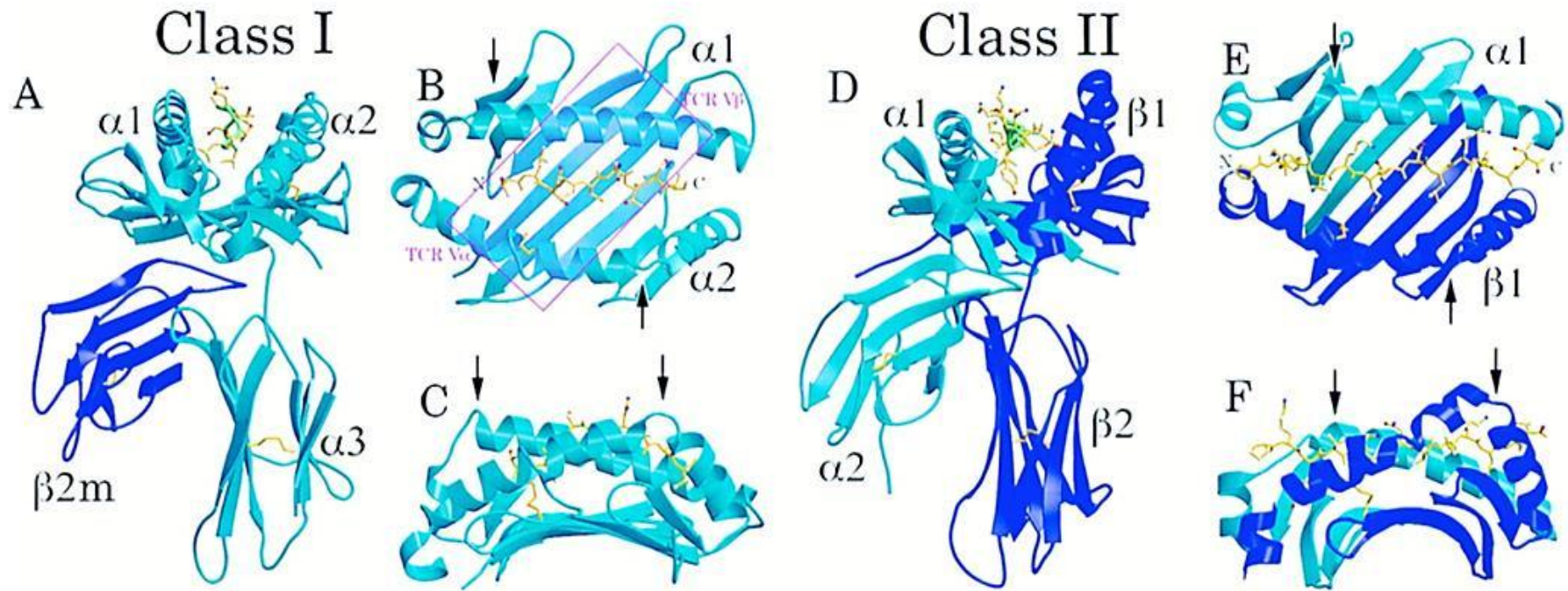
  

(hijo 1)		(hijo 2)	
a	c	b	c
A 11	A 02	A 68	A 02
B 55	B 55	B 40	B 55
DR 14	DR 15	DR 04	DR 15

Murphy Kenneth, Travers Paul WM. Inmunobiología de Janeway. 2009. 197–205 p

**Herencia mendeliana de haplotipos HLA**



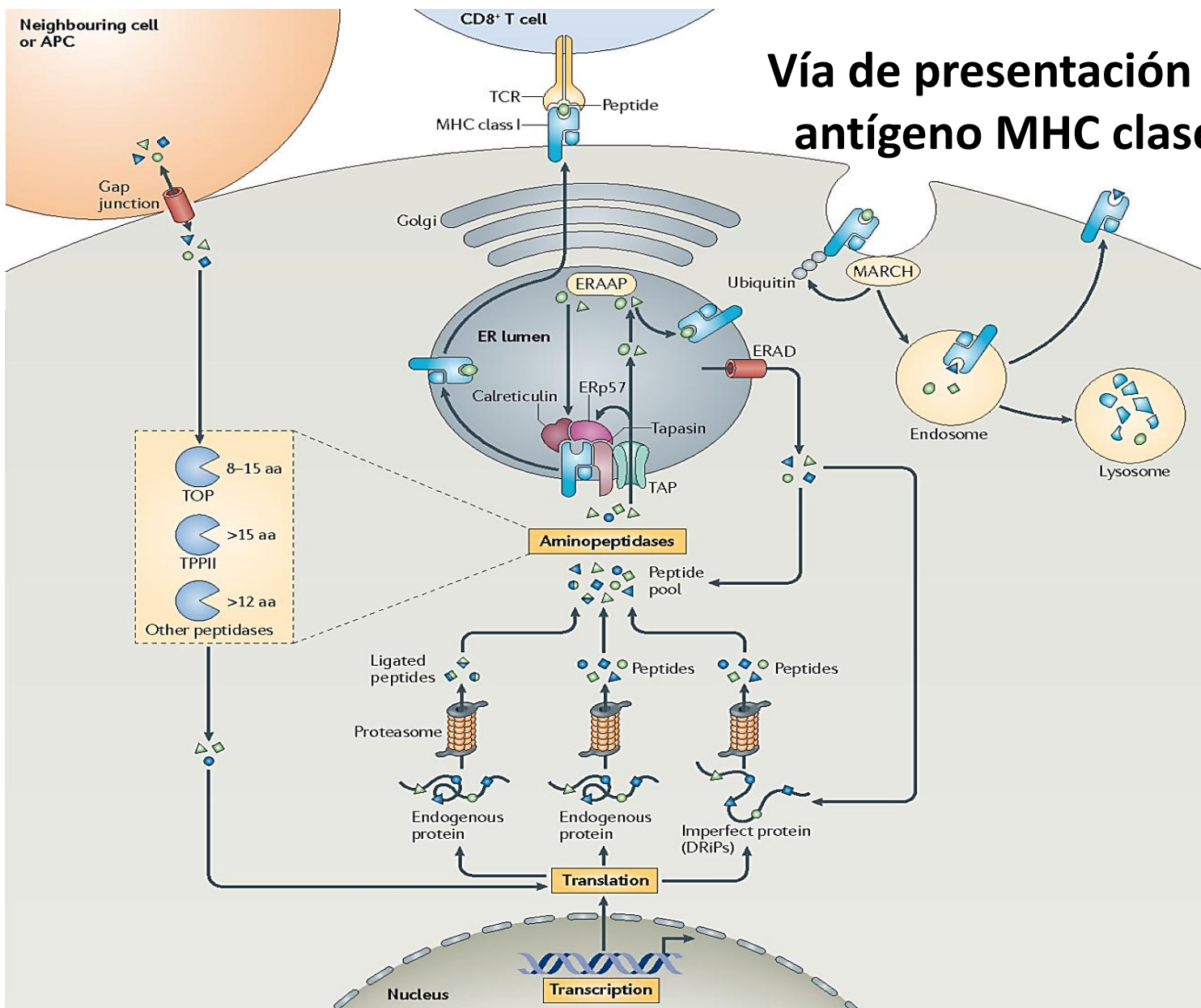


**Modelos moleculares de moléculas HLA de clase I (A – C) y clase II (D – F). A,**

**Chaplin DD. Overview of immune response. J Allergy Clin Immunol. 2010;125:41**



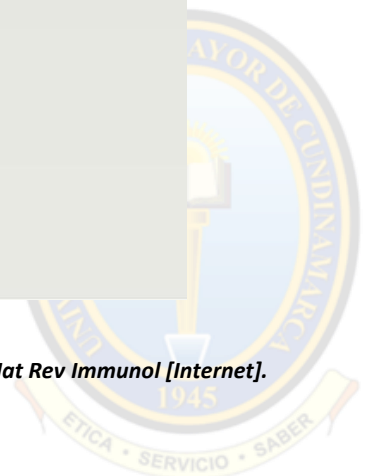
Neighbouring cell  
or APC



# Vía de presentación del antígeno MHC clase I

## Vía de presentación del antígeno MHC clase I

*Neefjes J, Jongsma MLM, Paul P, Bakke O. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. Nat Rev Immunol [Internet].*



# IPD-IMGT / HLA VERSIÓN 3.36.0, 2019-04-17

## Números de alelos HLA

Alelos HLA Clase I 16.200

Alelos HLA Clase II 6,162

ALELO HLA-B → 6128 subtipos



ALELO HLA-B\*27 → 269 subtipos

OMS C de N de la. IPD-IMGT / HLA [Internet]. IPD-IMGT / HLA. 2019.

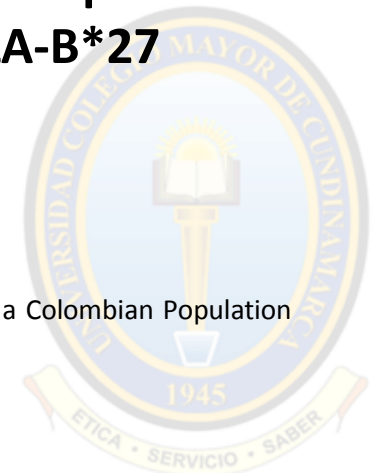
**Table 3. Positive HLA-B27 data distribution.**

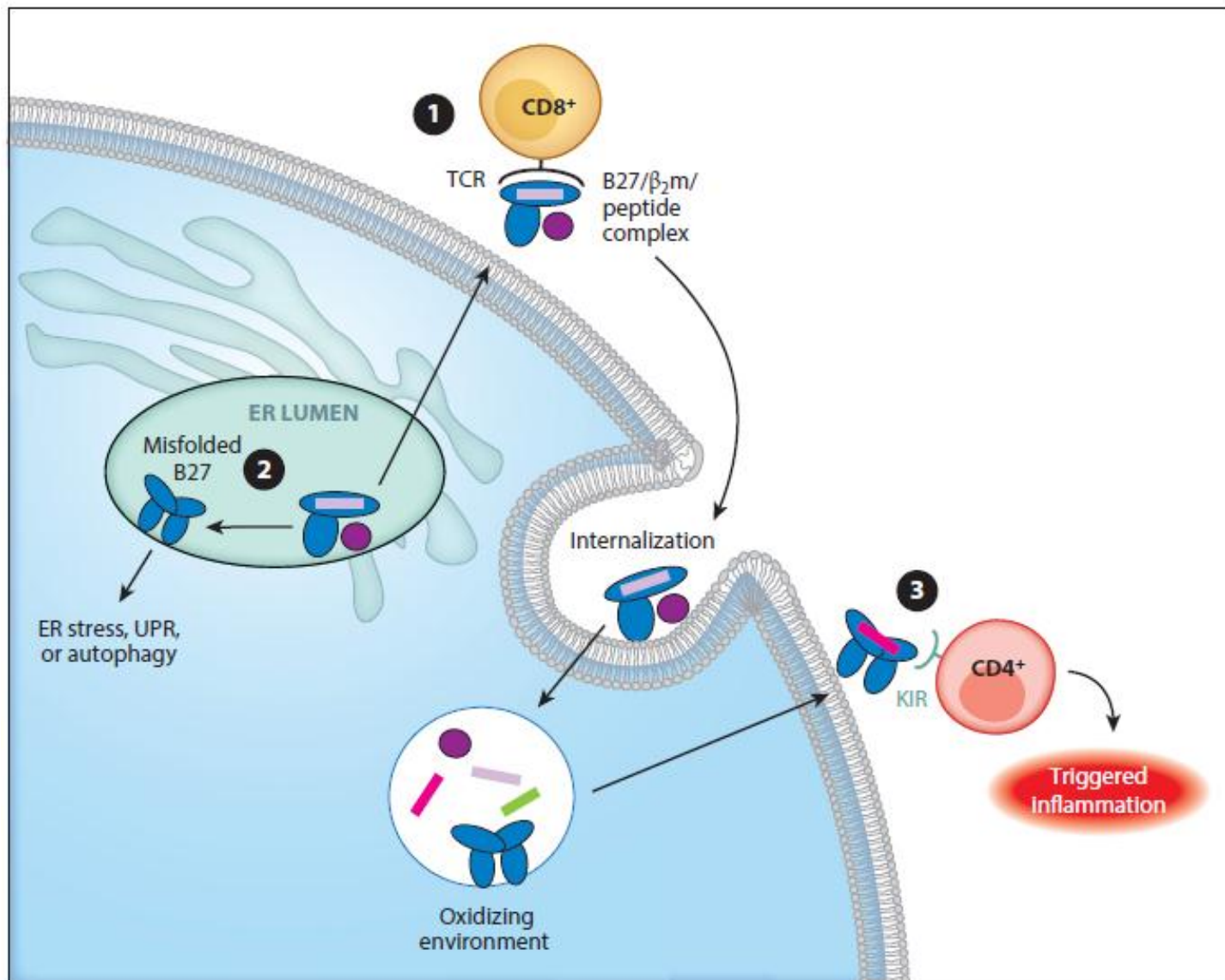
	N (%)
HLA-B27	497(12,1%)
0-18 years	39 (7,80%)
19-45 years	272 (54,70%)
> 45 years	186 (37,40%)
Females	214 (43,1%)
Males	283 (56,9%)



**12.1% fueron positivos para el HLA-B\*27**

Romero-sánchez C, M LC, Gómez A, G MCC, Bautista-molano W, Briceño I, et al. The Frequency of HLA-B27 in a Colombian Population with Signs of Spondyloarthritis. 2017;1-5.





### ***El papel patógeno de HLA-B27 en la espondiloartritis***

*Cortes A, Hadler J, Pointon JP, Robinson PC, Karaderi T, Leo P, et al. Identification of multiple risk variants for ankylosing spondylitis through high-density genotyping of immune-related loci. Nat Genet. 2015;45(7):730–8*





# OBJETIVO GENERAL

*Establecer la frecuencia del alelo HLA-B en un grupo de individuos sanos en colombiana.*



## **MUESTRA**

Resultados de la tipificación HLA-B y B\*27 positivos de individuos sanos remitidos al laboratorio de Inmunología del Hospital Militar Central desde el año 2015 al 2018, por sistema molecular SSO-LUMINEX IS 100/200.

## **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

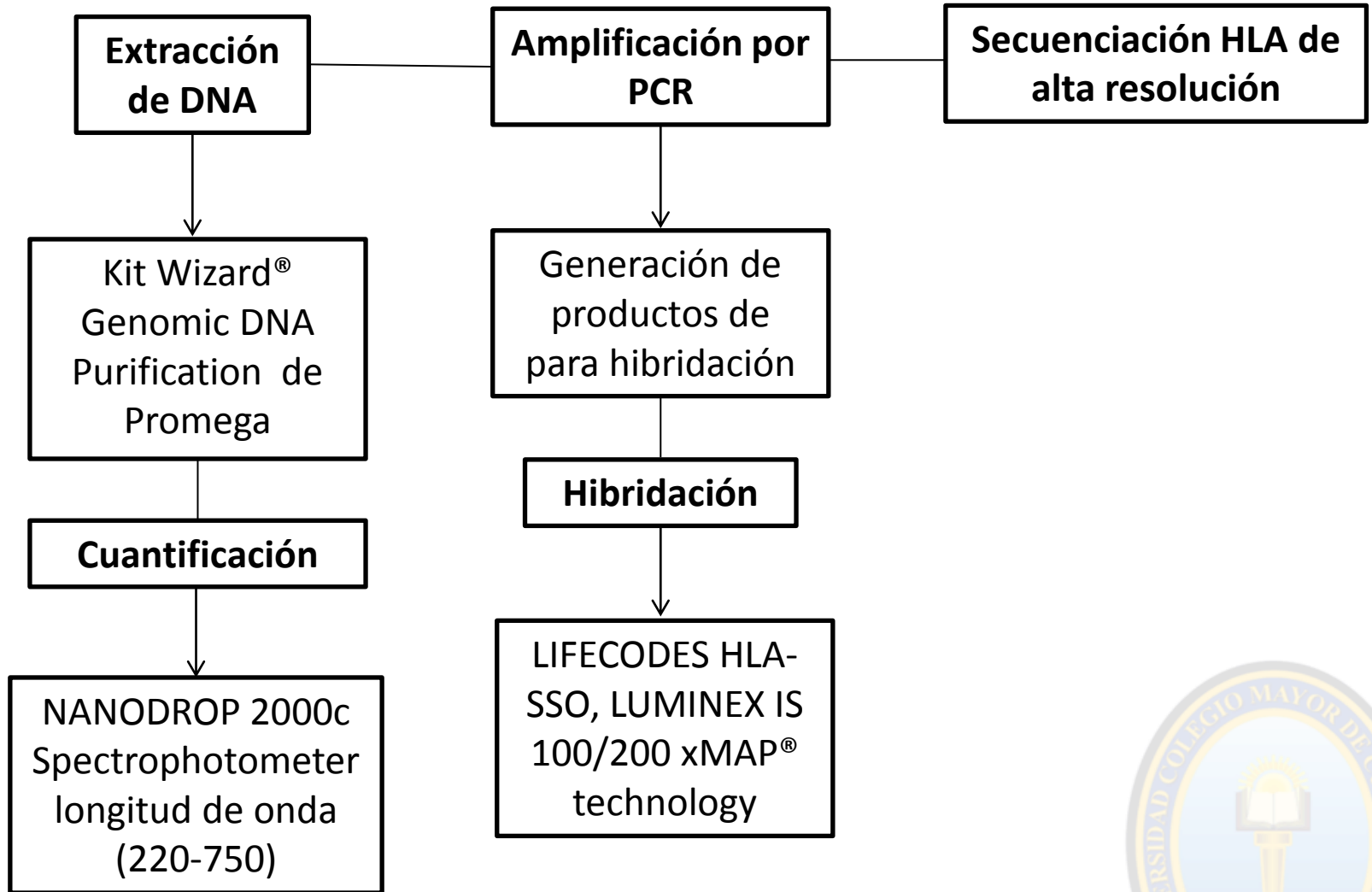
Resultados de la tipificación HLA-B de sujetos que cumplan con las condiciones para establecer frecuencias alélicas y genotípicas y sin signos, síntomas o diagnóstico de enfermedades reumáticas autoinmunes.

## **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Resultados de de la tipificación HLA-B y B\*27 de individuos con signos, síntomas o diagnóstico de enfermedad reumática o neoplásica y resultados por otra técnica diferente a SSO para HLA o resultados inconclusos.

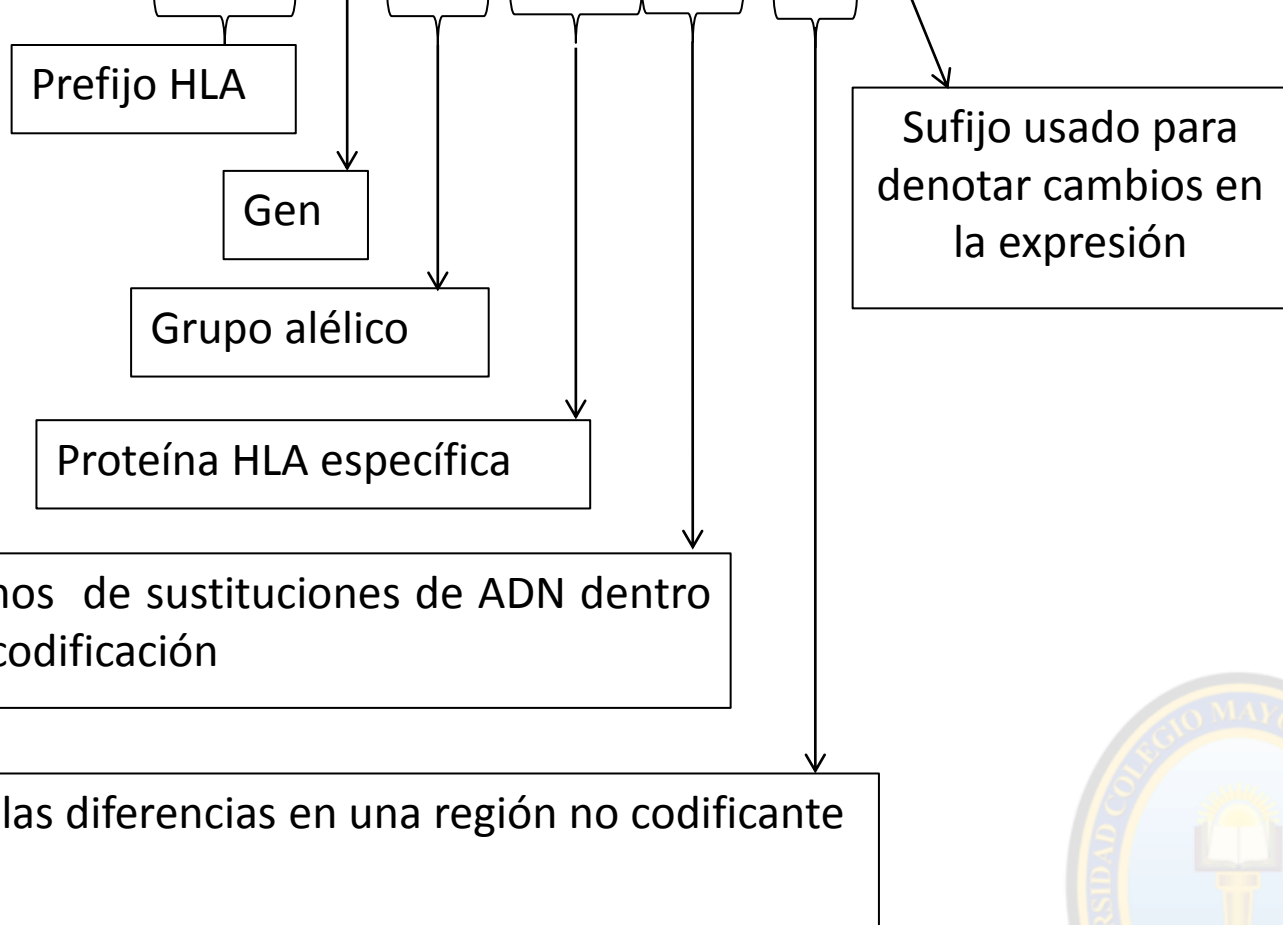


# TÉCNICAS



# NOMENCLATURA MOLECULAR HLA

**HLA-B\*02:101:01:02N**



# RESULTADOS



## Tabla 1. Análisis Demográfico

		n	%
<b>AÑO</b>	2015	29	11.4%
	2016	72	28.2%
	2017	55	21.6%
	2018	99	38.8%
<b>EDAD</b>	0-18 años	23	9.6%
	19-45 años	136	57.1%
	> 45 años	79	33.1%
<b>GENERO</b>	Femenino	126	49.4%
	Masculino	129	50.6%
<b>PROCEDENCIA</b>	Norte de la costa pacífica y la Isla de san Andrés	0	0%
	Región Andina Central, región Amazónica, región Orinoquia	134	80.24%
	Suroeste de la región Andina y la costa del Caribe	33	18.56%
<b>SERVICIO</b>	Reumatología	91	35.7%
	Oftalmología	32	12.5%
	Otros	18	7.05%
	No aplica	114	44.7%
<b>TIPO DE INDIVIDUO</b>	Donante	114	44.7%
	Paciente	141	55.3%



# OBJETIVO ESPECIFICO

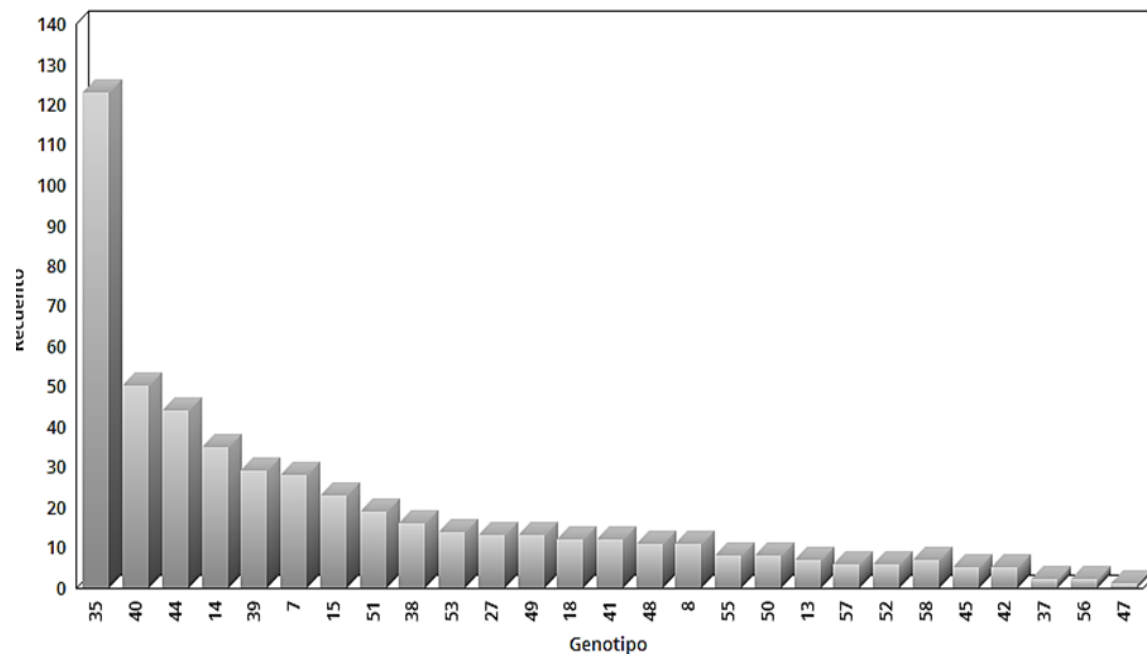
*Determinar la frecuencia genotípica y alélica del HLA-B en población sana colombiana.*



### Frecuencia Genotípica

B*	n	%
35	123	48.23
40	50	19.60
44	44	17.25
14	35	13.72
39	29	11.37
7	28	10.98
15	23	9.01
51	19	7.45
38	16	6.27
53	14	5.49
27	13	5.09
49	13	5.09
18	12	4.70
41	12	4.70
48	11	4.31
8	11	4.31
55	8	3.13
50	8	3.13
13	7	2.74
57	6	2.35
52	6	2.35
58	7	2.74
45	5	1.96
42	5	1.96
37	2	0.78
56	2	0.78
47	1	0.39

**Tabla 2. Frecuencias Genotípicas HLA-B**



**Distribución de genotipos HLA-B**

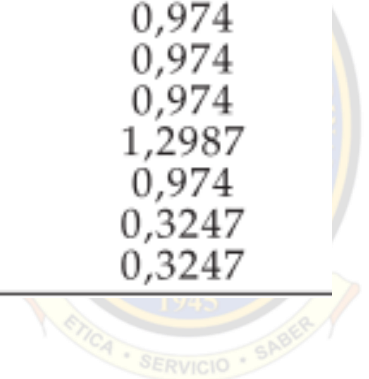




# Reportes de frecuencias genotípicas en otros estudios

Bogotá D.C	
Geno. B	Freq (%)
07	5.4
08	3.18
13	0.92
14	4.92
15	4.89
18	3.51
27	1.36
→35	23.02
37	0.41
38	2.29
39	5.09
→40	10.35
41	1.06
42	0.69
→44	9.74
45	1.44
47	0.03
48	1.71
49	2.8
50	1.95
51	6.7
52	1.47
53	1.95
55	0.75
56	0.1
57	1.88
58	2.22
73	0.07
78	0.03
81	0.07

Huila	
B	Fr
→7	5,8442
8	3,5714
13	0,974
→14	6,8182
→15	6,1688
18	3,2468
27	4,5455
→35	15,5844
37	0,3247
38	2,9221
39	3,8961
→40	7,7922
41	3,5714
→44	10,3896
45	1,2987
48	3,5714
49	0,6494
50	2,2727
→51	7,7922
52	1,6234
53	1,2987
54	0,974
55	0,974
56	0,974
57	1,2987
58	0,974
59	0,3247
78	0,3247



## Suroccidente Colombiano

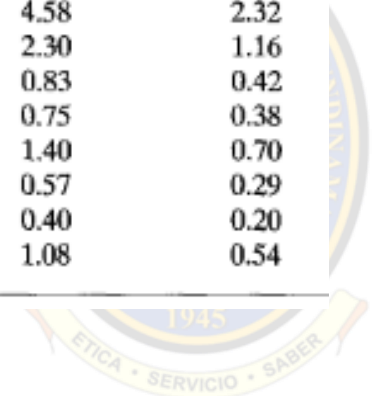
Alelos HLA-B*	Frecuencia (%)
39	5.7
58	2.5
48	1.4
→ 40	10.5
57	2
→ 44	9.5
→ 35	17.7
18	5.2
50	1.2
07	5.4
51	6.8
53	2.8
38	2.2
14	5.4
52	1.7
08	2.8
15	6.2
42	1.5
49	2.6
13	0.8
41	1.6
47	0.3
45	1.5
27	1.5
55	0.7
81	0.1
37	0.2
56	0.1
78	0.1

## Medellín

Alelos HLA-B	N	%
07	89	4,8
08	56	3,0
13	18	1,0
14	6	0,3
15	11	0,6
17	21	1,1
18	131	7,1
27	25	1,4
→ 35	329	17,8
37	5	0,3
38	45	2,4
39	91	4,9
40	21	1,1
41	26	1,4
42	15	0,8
→ 44	168	9,1
45	20	1,1
46	2	0,1
47	4	0,2
48	12	0,6
49	53	2,9
50	28	1,5
→ 51	118	6,4
52	21	1,1
53	39	2,1
55	16	0,9
56	5	0,3
57	46	2,5
58	37	2,0
59	4	0,2
60	62	3,4
61	100	5,4
62	31	1,7
63	31	1,7
64	21	1,1
65	96	5,2
67	2	0,1
70	8	0,4
71	8	0,4
72	26	1,4
75	1	0,1
78	3	0,2
81	1	0,1

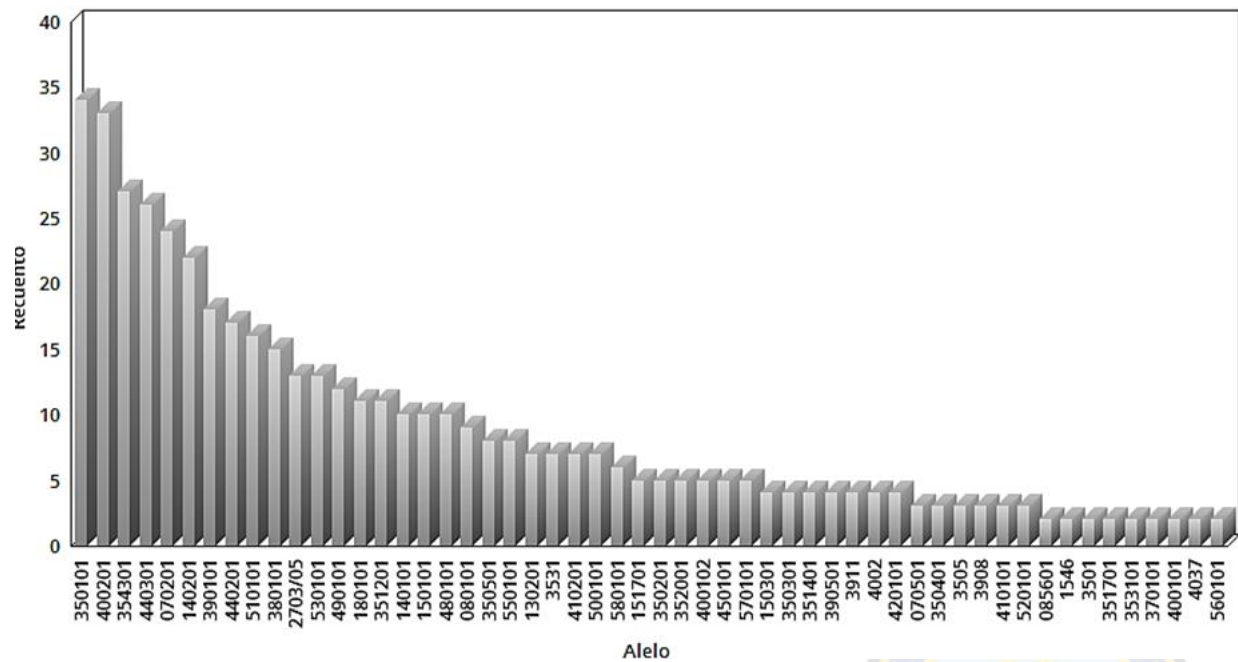
## Uruguay

Locus B Antigen	Frequency Phenotype	(%) Allele
→ 5	19.70	10.39
7	12.09	6.24
8	10.93	5.62
→ 12	23.01	12.26
13	4.14	2.09
14	14.24	7.39
15	8.28	4.23
16	4.90	2.48
17	8.28	4.23
18	9.27	4.75
21	5.79	2.94
22	3.79	2.01
27	7.45	3.80
→ 35	21.85	11.60
37	0.67	0.43
39	1.73	0.87
40	9.44	4.84
41	1.11	0.56
42	0.50	0.25
→ 44	18.90	9.94
45	0.36	0.18
47	0.30	0.15
49	1.81	0.91
51	4.58	2.32
53	2.30	1.16
55	0.83	0.42
56	0.75	0.38
57	1.40	0.70
61	0.57	0.29
62	0.40	0.20
73	1.08	0.54



HLA-B*	Frecuencia	
	n	%
350101	34	6.7
400201	33	6.5
354301	27	5.3
440301	26	5.1
070201	24	4.7
140201	22	4.3
390101	18	3.5
440201	17	3.3
510101	16	3.1
380101	15	2.9
2703/05	13	2.5
530101	13	2.5
490101	12	2.4
180101	11	2.2
351201	11	2.2
140101	10	2.0
150101	10	2.0
480101	10	2.0
080101	9	1.8
350501	8	1.6
550101	8	1.6
130201	7	1.4
3531	7	1.4
410201	7	1.4
500101	7	1.4
580101	6	1.2

**Tabla 3. Frecuencias alélicas HLA-B**



**Fig 6. Distribución de alelos HLA-B**

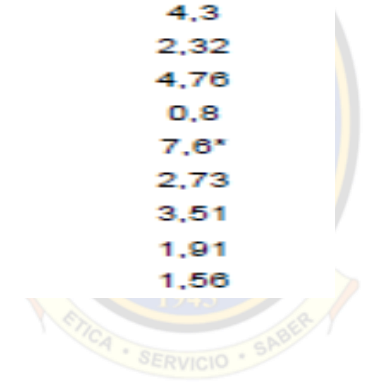


La determinación de los alelos HLA-B se realizó por tecnología Luminex IS 100/200

# Reportes de frecuencias alélica en otros estudios

Bogotá D.C		
Alelo	Freq	Freq (%)
→ 07:02g	146	4.99
08:01g	93	3.18
→ 14:02g	117	4.00
15:01g	53	1.81
→ 18:01g	101	3.45
35:01g	132	4.51
35:12	83	2.84
→ 35:43g	253	8.65
38:01g	67	2.29
39:05	84	2.87
→ 40:02g	247	8.44
→ 44:02g	114	3.90
→ 44:03g	164	5.60
49:01g	82	2.80
50:01g	55	1.88
→ 51:01g	165	5.64
53:01g	57	1.95

Cuba	
LOCUS – B	
Alelo	fg
→ 07*	8.89*
08	2.32
0801	2.32
13	1.56
→ 14*	5.9*
15	4.0
1503	0.4
18	4.3
22	0.4
27	1.15
2702	0.4
→ 35*	9.77*
3701	1.15
3801	2.73
39	1.91
40	0.8
4001	2.73
41	0.4
4102	1.56
4201	4.0
→ 44*	9.33*
4402	0.4
4501	2.32
4601	0.4
4701	1.15
4802	1.15
4901	4.3
5001	2.32
51	4.76
52	0.8
→ 53*	7.6*
57	2.73
5801	3.51
5802	1.91
78	1.56



DEPARTAMENTO	NÚMERO DE GENOTIPOS	NÚMERO DE ALELOS	n
ANTIOQUIA	9	10	10
ATLÁNTICO	2	2	2
BOGOTÁ D.C.	21	43	59
BOLIVAR	3	4	3
BOYACÁ	10	11	8
CALDAS	2	2	1
CAQUETÁ	4	4	4
CAUCA	7	12	10
CESAR	6	6	3
CÓRDOBA	3	3	10
CUNDINAMARCA	17	24	17
GUAJIRA	2	2	1
GUAVIARE	2	3	2
HUILA	7	8	4
MAGDALENA	4	4	2
META	9	14	6
NARIÑO	4	4	2
NORTE DE SANTANDER	6	7	4
PUTUMAYO	3	4	2
QUINDÍO	3	3	2
RISARALDA	4	4	2
SANTANDER	5	5	3
TOLIMA	12	16	10
VALLE	11	13	8

## Tabla 4. Distribución de genotipos y alelos por departamentos

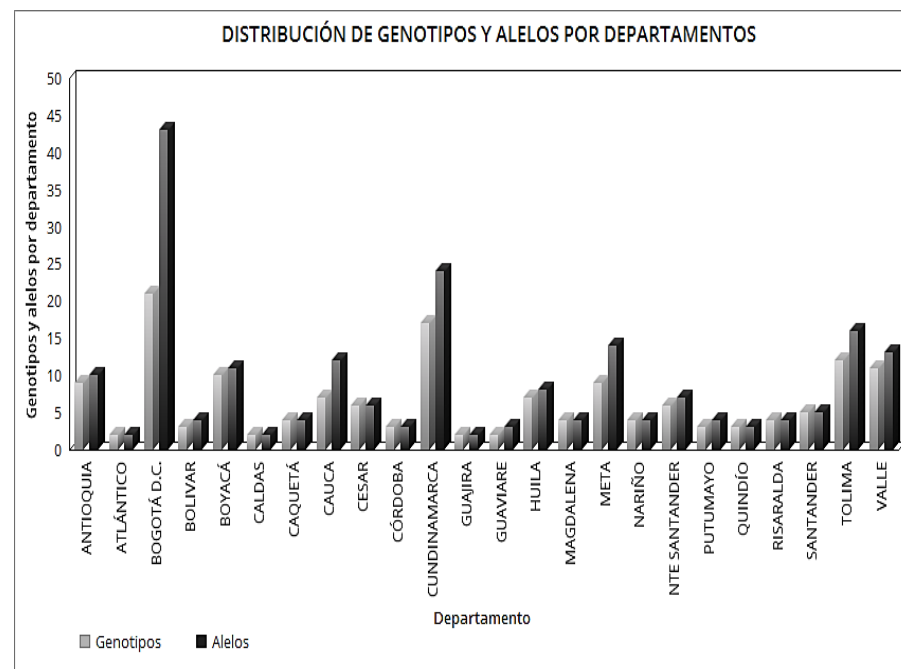
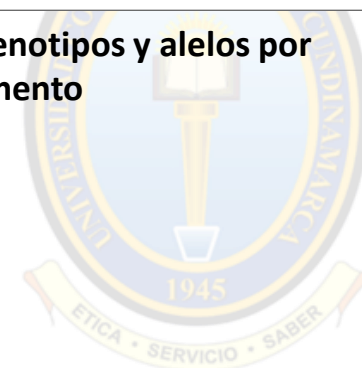
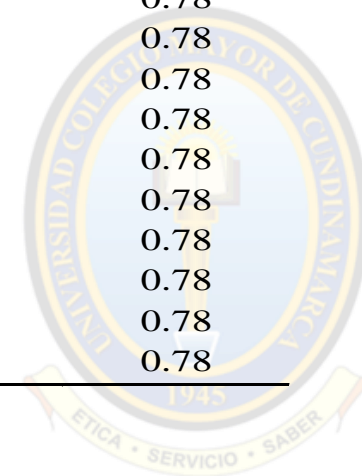


Fig 7. Distribución de genotipos y alelos por departamento



**Tabla 5. Frecuencias  
Haplotípicas ABDR**

<b>HAPLOTIPO</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>A*02:01B*35:05DRB*04:07</b>	5	1.96
<b>A*24:02B*40:02DRB*14:02</b>	5	1.96
<b>A*02:01B*14:02DRB*01:01</b>	4	1.57
<b>A*03:01B*07:02DRB*04:07</b>	4	1.57
<b>A*03:01B*35:12DRB*16:12</b>	3	1.18
<b>A*02:01B*18:01DRB*03:01</b>	3	1.18
<b>A*24:02B*35:01DRB*08:01</b>	3	1.18
<b>A*24:02B*35:43DRB*04:07</b>	3	1.18
<b>A*02:01B*07:02DRB*01:03</b>	2	0.78
<b>A*02:01B*15:01DRB*04:07</b>	2	0.78
<b>A*02:01B*15:17DRB*11:02</b>	2	0.78
<b>A*02:01B*35:43DRB*04:07</b>	2	0.78
<b>A*02:01B*39:01DRB*04:04</b>	2	0.78
<b>A*02:01B*40:02DRB*04:03</b>	2	0.78
<b>A*02:01B*41:02DRB*04:01</b>	2	0.78
<b>A*02:04B*44:02DRB*01:03</b>	2	0.78
<b>A*03:01B*35:01DRB*01:01</b>	2	0.78
<b>A*11:01B*07:02DRB*12:01</b>	2	0.78
<b>A*24:02B*14:02DRB*01:01</b>	2	0.78
<b>A*24:02B*15:46DRB*08:02</b>	2	0.78
<b>A*02:01B*35:05DRB*14:02</b>	2	0.78
<b>A*11:01B*51:01DRB*04:03</b>	2	0.78
<b>A*24:02B*15:01DRB*15:01</b>	2	0.78
<b>A*24:02B*35:43DRB*13:01</b>	2	0.78
<b>A*24:02B*35:43DRB*15:01</b>	2	0.78
<b>A*24:02B*51:01DRB*16:02</b>	2	0.78
<b>A*26:05B*48:01DRB*13:03</b>	2	0.78
<b>A*31:01B*40:02DRB*16:01</b>	2	0.78
<b>A*33:01B*44:03DRB*04:07</b>	2	0.78
<b>A*68:01B*39:01DRB*08:02</b>	2	0.78
<b>A*68:02B*53:01DRB*01:02</b>	2	0.78



**OBJETIVO ESPECIFICO**

***Definir la frecuencia alélica y genotípica del HLA-B\*27 en población sana colombiana.***

		Positivos HLA-B*27		
		n	%	valor P
<b>RANGO DE EDAD</b>	<b>0-18 años</b>	1	7.6%	0.900
	<b>19-45 años</b>	7	53.8%	
	<b>&gt; 45 años</b>	3	23.0%	
<b>GENERO</b>	<b>Femenino</b>	6	46.1%	0.809
	<b>Masculino</b>	7	53.8%	
<b>PROCEDENCIA</b>	<b>Norte de la costa pacífica y la Isla de san Andrés</b>	1	7.69%	0.905
	<b>Región Andina Central, región Amazónica, región</b>	8	61.53%	

**Tabla 6. Distribución por edad y género en individuos HLA-B\*27 positivos**

De los 255 datos recolectados 13 sujetos fueron positivos para el antígeno HLA-B\*27 que corresponde a una frecuencia genotípica del 5% y una frecuencia alélica del 2.5%.



### Tipificación 1

Tipificación Molecular				
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1
A*03:01:01G/ A*29:02:01G	B*14:02:01G/ B*27:05:02G	C*01:02:01G/ C*08:02:01G	DRB1*01:01:01G/ DRB1*07:11	DQB1*02:01:01G/ DQB1*05:01:01G

### Tipificación 2

Tipificación Molecular				
HLA-A	HLA-B	HLA-C	HLA-DRB1	HLA-DQB1
A*02:01:01G/ A*32:01:01G	B*27:05:02G/ B*50:01:01G	C*01:02:01G/ C*06:02:01G	DRB1*04:11:01/ DRB1*04:07:01G	DQB1*03:02:01G/ DQB1*03:02:01G

**Tabla 7. Resultado de secuenciación de dos individuos sanos**

		HLA-B		
Genotipo	Freq (%)	Alelo	Freq	Freq (%)
27	1.36	27:02g	7	0.24
		27:03	1	0.03
		27:05g	31	1.06
		27:07	1	0.03

**Frecuencia genotípica y alélica en  
1463 unidades de sangre de  
cordón en Bogotá**





## OBJETIVO ESPECIFICO

***Describir la asociación de las frecuencias genotípicas y alélicas con género y distribución geográfica del HLA B.***

Se determinaron las asociaciones de los alelos B\*3501, B\*4002, B\*4403 y B\*0702 con el género y la procedencia de los individuos, se encontró asociación estadísticamente significativa del alelo B\*0702 con el género femenino obteniendo un valor  $P=0.008$ .



## OBJETIVO ESPECIFICO

***Identificar la asociación de las frecuencias genotípicas y alélicas con género y distribución geográfica del HLA –B\*27.***

No se encontraron valores estadísticamente significativos. Sin embargo, se encontró mayor frecuencia en el género masculino de 53.8%, además, el 61.53% de los individuos son nativos de la región andina central, región amazónica y región Orinoquia.



# CONCLUSIONES



- se establece los genotipos B\*35, B\*40 y B\*44 y los alelos B\*35:01, B\*40:02 y B\*35:43 como los más frecuentes en la población colombiana, concluyendo que el tamaño de la muestra es representativo ya que los resultados concuerdan con los publicados en Colombia y Latinoamérica principalmente.
- la frecuencia genotípica y alélica del B\*27 en individuos sin síntomas asociados a enfermedades inflamatorias es baja y no tiene asociación al género, edad o procedencia de los sujetos, en comparación con la población que expresa B\*27 positivo asociado a enfermedades reumáticas.
- A pesar de que las asociaciones no hayan sido estadísticamente significativas se podría pensar que el lugar de procedencia de los individuos influye en la expresión de los alelos HLA.



# AGRADECIMIENTOS



**Instituto UIBO-Unidad de Investigación Básica  
Oral. Universidad El Bosque.**



**Servicio de Reumatología e  
Inmunología.  
Hospital Militar Central.**



# BIBLIOGRAFIA

- Bermeo S, Guerra MT, Alfonso HO. Frecuencias de HLA-A, B y DRB1 en una población de Huila-Colombia. Rev Fac Salud - RFS. 2015;2(1):9–19.
- Arrunategui AM, Villegas A, Ocampo LÁ, Rodríguez LM, Badih A. Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas del sistema HLA clase I y II en donantes de una población del suroccidente colombiano. Acta Medica Colomb [Internet].
- Rodríguez LM, Giraldo MC, García N, Velásquez L, París SC, Álvarez CM, et al. Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 en donantes fallecidos, Medellín, Colombia. Biomédica [Internet]. 2007;27(4):537. Available from: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/172>
- Paradoa ML, Middleton D, Acosta A, Sarmiento ME, Leyva J. Genes HLA en una muestra de la población cubana. Vaccimonitor. 2000;(3):3–7.
- Páez-Gutiérrez IA, Hernández-Mejía DG, Vanegas D, Camacho-Rodríguez B, Perdomo-Arciniegas AM. HLA-A, -B, -C, -DRB1 and -DQB1 allele and haplotype frequencies of 1463 umbilical cord blood units typed in high resolution from Bogotá Colombia. Hum Immunol [Internet]. 2019;6–11. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2019.03.006>
- Bjorkman PJ, Parham P. STRUCTURE, FUNCTION, AND DIVERSITY OF CLASS I MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX MOLECULES. 1990

