

## Artículos Originales

# Frecuencia de genes HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 y DPB1 en la población panameña y su relación con la población mundial.

Alejandro Vernaza-Kwiers\*, Luis Ortiz, Juan Moscoso\*, Gina Gutiérrez\*, Elena Blake\*, Cesar Cuero\*\* Ricardo Aguilar\*\*\*.

**Palabras claves:**

Locus, alelo, gen, haplotipo.

**Keywords:**

Locus, allele, gene, haplotyp.

Laboratorio de Trasplante Caja de Seguro Social, Panamá\*. Servicio de Nefrología \*\* y Servicio de Hematología\*\*\* del Complejo Hospitalario de la Caja de Seguro Social, Panamá.

Correspondencia:  
Alejandro Vernaza,  
al\_ve\_rnaza@hotmail.com

**Resumen**

**Objetivo:** estudiar la frecuencia de alelos HLA Clase I (A, B y C) y Clase II (DRB1, DQB1 y DPB1) en la población panameña; determinar el posible origen racial de estos alelos y comparar esta frecuencia con otras poblaciones a nivel mundial. **Material y Método:** Un total de 799 panameños fueron estudiados y se les extrajo una muestra de sangre periférica anticoagulada con EDTA para alelos de locus HLA-A, B y C y HLA-DR, DQ y DP y tipificados en el Laboratorio de Trasplante del Complejo Hospitalario de la Caja de Seguro Social durante los años 2007 a 2014. **Resultado:** Un total de 108 alelos fueron determinados en base a haplotipos diferentes entre receptores y donantes. Se determinó la presencia de 19 alelos de genes HLA-A, 28 alelos de genes HLA-B, 14 alelos de genes HLA-C, 13 alelos de genes HLA-DRB1, 7 alelos de genes HLA-DQB1 y 18 alelos de genes HLA-DPB1. Se observó un alto polimorfismo para los locus HLA A, B, y C. y se hizo la correlación de origen de los alelos con las razas negra, caucásica y oriental.

**Conclusión:** Al estudiar la frecuencia de alelos en la población panameña encontramos presencia del 95% de los alelos del sistema HL. Se logró determinar el origen multirracial de la mayoría de los genes y origen específico de algunos. Al comparar la frecuencia de alelos en la población panameña con la mundial, se observa presencia de un 95% de todos los alelos descubiertos, confirmando el polimorfismo del Sistema HLA, con mayor presencia del asiático y caucásico.

**Abstract**

**Objective:** to study the frequency of HLA class I (A, B and C) and class II (DRB1, DQB1 and DPB1) alleles in the Panamanian population; determine the possible racial origin of these alleles and compare this frequency with other populations around the world. **Materials and methods:** A total of 799 Panamanians were studied and extracted them a sample of peripheral blood anticoagulated with EDTA for alleles locus HLA-A, B and C and HLA-DR, DQ and DP and established in the laboratory of transplantation of the complex Hospital of the Caja de Seguro Social for the years 2007 to 2014. **Result:** A total of 108 alleles were determined on the basis of different haplotypes between recipients and donors. The presence of 19 alleles of genes HLA-A, 28 alleles of genes HLA-B, 14 alleles of genes HLA-C, 13 alleles of genes HLA-DRB1, 7 genes HLA-DQB1 alleles and 18 genes HLA-DPB1 alleles was determined. It was observed a high polymorphism for the locus HLA A, B, and C. and became the correlation of origin of alleles with the races black, Caucasians and oriental.

**Conclusion:** by studying the frequency of alleles in the Panamanian population found presence of 95% of the alleles of the system HL is managed to determine the genes most multiracial origin and some specific source. Presence of 95% of all the alleles discovered is observed by comparing the frequency of alleles in the Panamanian population with the world, confirming the polymorphism of HLA system, with a greater presence of Asian and Caucasian.

El Sistema Genético de antígenos de leucocitos humanos HLA (Human Leukocyte Antigen) es el más polimórfico[1, 2, 3]. Estos genes están ligados y forman el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) que ocupa aproximadamente 4000 Kb del brazo corto del cromosoma 6 (6p21.1 – 6p21.3) y contiene más de 220 genes[4].

Su función es regular la respuesta inmune celular y humoral mediante la presentación e interacción de la molécula HLA de la célula procesadora de antígenos con el receptor de célula-T (TCR). Este papel central en la respuesta inmune y el amplio polimorfismo HLA, lo convierten en uno de los factores más importantes en la terapia de trasplante de órganos sólidos, el injerto de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) y la asociación con enfermedades de tipo autoinmune[5].

La frecuencia de alelos HLA varía grandemente en las poblaciones humanas[6] y su descripción permite establecer el nivel de posible compatibilidad en trasplante de órganos sólidos y en el injerto de CPH cuando se utilizan la lista de espera por donante fallecido y el registro de donantes no relacionados del Proyecto PANAMA-DONO y de los bancos de cordón umbilical respectivamente.

El conocimiento de la frecuencia de genes HLA permite conocer las probabilidades que tiene un receptor de encontrar un donante compatible, ayuda en la determinación de la probabilidad de ser trasplantado, con donante no relacionado en los diferentes programas[6].

Estos datos son adicionalmente importantes en términos de estudios antropológicos de la población panameña para efectuar estudios filogenéticos, trazando las migraciones genómicas[1,2,7] y para las investigaciones biomédicas que definen asociación específica de alelos HLA y enfermedades[8].

Cuando Cristóbal Colón llegó al Istmo de Panamá, encontró que la población era exclusivamente indígena. Actualmente, la población panameña es una mezcla de genes provenientes de españoles y de otras migraciones europeas, y de esclavos traídos de las Antillas o directamente del África.

Durante el siglo 19 la República de Panamá estaba poco poblada, en 1896 contaba con 400,000 habitantes dispersos por el territorio y la ciudad de Panamá con 24,000 habitantes. Varias oleadas de inmigrantes y trabajadores arribaron al istmo incluyendo franceses, habitantes de las islas caribeñas franco y anglo parlantes (Ja-

maica y Barbados) y vecinos de Costa Rica y Colombia. Actualmente hay influjo hereditario de chinos, hebreos, italianos, griegos, árabes, anglosajones entre otros.

Existe un reporte previo de la frecuencia de genes en la población panameña (PP) [9] utilizando técnicas de microlinfocitotoxicidad de baja resolución, para alelos de loci HLA-A, -B, -C, -DR. El presente estudio, incorpora resultados mediante técnicas moleculares ADN-PCR-SSP y ADN-PCR-SSO, para alelos HLA-A\*, -B\*, -Cw\*, -DRB1\*, -DQB1\*, -DPB1\* en intermedia resolución.

El propósito de este trabajo es estudiar la frecuencia de alelos HLA Clase I (A, B y C) y Clase II (DRB1, DQB1 y DPB1) en la población panameña; determinar el posible origen racial de estos alelos y comparar esta frecuencia con otras poblaciones a nivel mundial.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### **Población estudiada**

Un total de 799 panameños fueron estudiados y se les extrajo una muestra de sangre periférica anticoagulada con EDTA para alelos de locus HLA-A, B y C y 513 panameños para alelos del locus HLA-DR, DQ y DP. Todos tipificados en el Laboratorio de Trasplante del Complejo Hospitalario de la Caja de Seguro Social durante los años 2007 a 2014. Esto incluyó pacientes de ambos sexos y con edades comprendidas entre 4 a 60. Las personas provenían de todas las regiones geográficas del país y se excluyeron personas de grupos raciales caucásicos, negros, orientales e indígenas.

La extracción del ADN genómico se efectuó mediante el uso de sangre periférica anticoagulada con EDTA y las técnicas de extracción “Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega), Maxwell 16 LEV Blood DNA Kit (Promega) y QIAmp DNA Mini Kits for genomic DNA (QIAGEN) (La concentración de ADN fue ajustada a 25 ng/ul.

Los alelos de los seis loci genéticos se tipificaron en baja e intermedia resolución utilizando PCR-SSP (Olerup Comby Trays) y PCR-SSO (Tepnel Life Codes HLA-SSO Typing Kits)

Los datos de resolución intermedia fueron reducidos a grupos de alelos de dos dígitos para el análisis estadístico.

**Análisis estadístico**

La frecuencia de los diferentes alelos fue calculada usando la siguiente fórmula:

$$\text{Frecuencia de alelos} = \frac{\text{número de alelos}}{\text{número total de pacientes}}[9].$$

Todas las frecuencias fueron calculadas de los datos obtenidos. Las poblaciones seleccionadas para el análisis eran predominantemente las provenientes de las tres áreas etnográficas que han contribuido históricamente a la formación de esta población híbrida: Europa (Españoles), nativos americanos (indígenas) y en menor extensión África, sub Sahariana[10].

**RESULTADOS**

El análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg de la PP, indica que la población panameña está en equilibrio (p mayor de 0.05) para todos los loci.

**Tabla 1. Frecuencia de genes de locus HLA-A en la población panameña.**

HLA-A*	No. observado	Frecuencia
A*01	42	5.3
A*02	190	23.8
A*03	42	5.3
A*11	34	4.3
A*23	35	4.4
A*24	186	23.3
A*25	7	0.9
A*26	12	1.5
A*29	28	3.5
A*30	57	7.1
A*31	37	4.6
A*32	13	1.6
A*33	17	2.1
A*34	9	1.1
A*36	2	0.3
A*43		0
A*66	5	0.6
A*68	66	8.3
A*69	1	0.1
A*74	16	2
A*80		0
<b>TOTAL</b>	<b>799</b>	<b>100</b>

Un total de 108 alelos fueron determinados en base a haplotipos diferentes entre receptores y donantes (21 de HLA-A, 35 de HLA-B, 13 de HLA-C, 13 de HLA-DR, 7 de HLA-DQ y 19 de HLA-DP).

El análisis molecular de la muestra de la PP determinó la presencia de:

**Tabla 2. Frecuencia de genes de locus HLA-B en la población panameña.**

HLA B*	No Observado	Frecuencia
B*07	42	5.3
B*08	21	2.7
B*13	6	0.8
B*14	19	2.4
B*15	74	9.4
B*18	16	2
B*27	16	2
B*35	167	21.2
B*37	3	0.4
B*38	10	1.3
B*39	44	5.6
B*40	128	16.3
B*41	7	0.9
B*42	15	1.9
B*44	46	5.8
B*45	7	0.9
B*46	2	0.3
B*47		0
B*48	7	0.9
B*49	20	2.5
B*50	10	1.3
B*51	39	5
B*52	11	1.4
B*53	20	2.5
B*54		0
B*55	2	0.3
B*56		0
B*57	22	2.8
B*58	31	3.9
B*59		0
B*67		0
B*73		0
B*78		0
B*81	1	0.1
B*82	1	0.1
<b>TOTAL</b>	<b>787</b>	<b>100</b>

19 alelos de genes HLA-A, los de frecuencia más común (mayor de 4%) son A\*02(23.8%), A\*24 (23.3%), A\*68 (8.3%), A\*30 (7.1%), A\*03(5.3%), A\*01 (5.3%), A\* 31 (4.6%), A\*23 (4.4%), A\*11 (4.3%). La Tabla . 1 presenta la lista completa de frecuencias del grupo alélico HLA-A.

28 alelos de genes HLA-B, los de frecuencia más común (mayor de 4%) son B\* 35 (21.2%), B\*40 (16.3%), B\*15(9.4%), B\* 44\* (5.8%), B\*39(5.6%), B\*07 (5.3%), B\*51(5.0%). La Tabla . 2 muestra la frecuencia alélica para este grupo de alelos.

14 alelos de genes HLA-C, los de frecuencia más común (mayor de 4%) son C\* 03 (22.9%), C\*04 \* (19.8%), C\*07 (18.8%), C\*01 (9. %), C\*06(5.4%), C\*08 (4.6%), C\*02 (4.5%). La Tabla . 3 muestra la frecuencia alélica para este grupo de alelos.

13 alelos de genes HLA-DRB1, los de frecuencia más común (mayor de 4%) son DRB1\*04\*(23.6%), DRB1\*13 (11.9) %), DRB1\*14 (9.0%), DRB1\*15(9.0%), DRB1\*07(8.0%), DRB1\*08 (7.6%), DRB1\*16 (7.2%), DRB1\*01 (7.0%) DRB1\*11 (6.0%), DRB1\*03 (5.7%). La Tabla . 4 presenta la lista completa de frecuencias del grupo alélico HLA-DRB1\*.

7 alelos de genes HLA-DQB1, los de frecuencia más común (mayor de 4%) son DQB1\*03 (50.4%), DQB1\*06 (12.9%), DQB1\*02 (12.0%), DQB1\*05 (11.7%), DQB1\*04/11.1%). La Tabla . 5 muestra la fre-

**Tabla 3. Frecuencia de genes de locus HLA-C en la población panameña.**

HLA-C*	No Observado	Frecuencia
Cw*01	75	9.6
Cw*02	35	4.5
Cw*03	178	22.9
Cw*04	154	19.8
Cw*05	24	3.1
Cw*06	42	5.4
Cw*07	146	18.8
Cw*08	36	4.6
Cw*12	15	1.9
Cw*13		0
Cw*14	8	1
Cw*15	19	2.4
Cw*16	22	2.8
Cw*17	22	2.8
Cw*18	2	0.3
TOTAL	778	100

cuencia alélica para este grupo de alelos.

18 alelos de genes HLA-DPB1, los de frecuencia más común (mayor de 4%) son DPB1\*04 (42.7%), DPB1\*14 (17.3%), DPB1\*03 (8.7%), DPB1\*02 (8.3%), DPB1\*01 (8.3%). La Tabla . 6 muestra la frecuencia alélica para este grupo de alelos. DISCUSION

Al analizar los resultados de la frecuencia de genes para el locus HLA-A, se observa que la PP posee un alto grado de polimorfismo, con presencia de casi todas las especificidades de este locus, con exclusión del gen A\*43, que es marcador genético de la población negra y del gen A\*80. El origen de los genes de mayor frecuencia en la PP indican que el HLA-A\*02 (23.8%) proviene de las poblaciones caucásicas (28.9%), oriental (28.1%) y negra (17.5%), indicando un origen multirracial de este gen; y el A\*24 de la población oriental (31.4%) caucási-

**Tabla 4. Frecuencia de genes de locus HLA-DRB1 en la población panameña.**

HLA-DRB1*	No Observado	Frecuencia
DRB1*01	36	7
DRB1*03	29	5.7
DRB1*04	121	23.6
DRB1*07	41	8
DRB1*08	39	7.6
DRB1*09	11	2.1
DRB1*10	10	1.9
DRB1*11	31	6
DRB1*12	5	1
DRB1*13	61	11.9
DRB1*14	46	9
DRB1*15	46	9
DRB1*16	37	7.2
TOTAL	513	100

**Tabla 5. Frecuencia de genes de locus HLA-DQB en la población panameña.**

HLA-DQB*	No observado	Frecuencia
DQB1*01	6	1.8
DQB1*02	41	12
DQB1*03	172	50.4
DQB1*04	38	11.1
DQB1*05	40	11.7
DQB1*06	44	12.9
DQB1*09		0
TOTAL	341	100

ca (10.3%) y negra (4.8). Este gen A\*24 indica el origen fuertemente oriental (indígena) de nuestra población panameña. Por su frecuencia en la población panameña, algunos genes HLA-A indican su origen como el A\*68(28) de la población negra, A\*1 y A\*3 de las poblaciones caucásicas y oriental; A\*23, A\*29, A\*30, con origen en la población negra.

Al evaluar la frecuencia de alelos del locus HLA-B, se confirma el alto polimorfismo de la PP con ausencia de genes B\*47, B\*54, B\*59, B\*67, B\*73, B\*78. Los genes B\*48 y B\*58 encontrados provienen del genoma oriental, ya que ambos están ausentes en las razas negra y caucásica. El gen B\*39 proviene del genoma caucásico y oriental, por estar ausente en la raza negra. Los genes B\*35 (21.2%) y B\*40 (16.3%), B\*15(9.4%) son los de mayor frecuencia en la PP. El gen B\*35 tiene alta frecuencia en las poblaciones mundiales (caucásica 10.5%, oriental 10.2% y negra 7.1%).

El incremento de este gen en la PP, puede indicar un efecto de desequilibrio genético asociado a un efecto selectivo positivo o su incorporación temprana al genoma nacional; el gen B\*40 tiene su mayor frecuencia en

la población oriental y en el estudio no hemos segregado los dos subtipos moleculares del B\*40 que son el B\*60 y el B\*61.

El gen B\*15 tiene su mayor frecuencia en la población caucásica y en el estudio no hemos segregado los dos sub-tipos moleculares B\*62 y B\*63. Al analizar la frecuencia de los otros genes, encontramos que los mismos tienen frecuencia que oscila entre 0.8% a 5.3%, lo cual indica una frecuencia casi uniforme en el genoma Panameño.

Al revisar la frecuencia de alelos del locus HLA-C, se confirma el polimorfismo de la frecuencia HLA en la PP, con el hecho de una mayor frecuencia de cuatro alelos: HLA-C\*03(22.9%), C\*04 (19.8%), C\*07(18.8%), C\*01 (9.6%) y con ausencia de C\*13. En conjunto se observan genes de ascendencia oriental como C\*01 y C\*03; del genoma caucásico y negra el C\*07; del negra C\*02 (4.5%), C\*04(19.8%), C\*06(5.4%) y C\*07 (18.8%).

Al analizar la frecuencia de alelos del locus DRB1\*, se observa que el alelo de mayor frecuencia es el DRB1:04 (23.6%) y su mayor origen es oriental. El alelo DRB1:13 (11.0%) tiene frecuencia mayor en la población panameña que en otras poblaciones, por lo cual no podemos trazar su origen. El alelo DRB1:15 está ausente en el estudio de Baur[11].

Al estudiar en la PP la frecuencia de los genes del locus DQB1, se observa que existe un desequilibrio genético con respecto al gen DQB1:03, ya que se encuentra en una frecuencia del 50.4%. No se puede establecer el origen de estos genes con respecto a las tres poblaciones mundiales por carecer de estos análisis de frecuencias.

Al analizar la frecuencia de los alelos DPB1 se observa que el alelo DPB1\*04 se encuentra en una frecuencia de 42.7%, lo cual indica existencia de un desequilibrio genético. El otro alelo con alta frecuencia es el DPB1\*14 (17.3%). En este locus genético no podemos establecer el origen racial de estos genes.

**Tabla 6. Frecuencia de genes de locus HLA-DQB en la población panameña.**

HLA- DPB1*	No Observado	FRECUENCIA
DPB1*01		8.3
DPB1*02	25	8.3
DPB1*03	26	8.7
DPB1*04	128	42.7
DPB1*05	4	1.3
DPB1*06	7	2.3
DPB1*10	1	0.3
DPB1*11	3	1
DPB1*12		0
DPB1*13	7	2.3
DPB1*14	52	17.3
DPB1*17	9	3
DPB1*18	4	1.3
DPB1*26	2	0.7
DPB1*40	1	0.3
DPB1*23	1	0.3
DPB1*27	2	0.7
DPB1*85	1	0.3
DPB1*09	2	0.7
TOTAL	300	100

## CONCLUSIÓN

1. Al estudiar la frecuencia de alelos en la población panameña encontramos presencia del 95% de los alelos del sistema HLA, destacándose el A2, a24, B35, C03, DR04, DQ03, DP04.

- |  |   |
|--|---|
| <p>2. Se logró determinar el origen multirracial de la mayoría de los genes y origen específico de algunos.</p> <p>3. Al comparar la frecuencia de alelos en la población panameña con la mundial, se observa presencia de un 95% de todos los alelos descubiertos, confirmando el polimorfismo del Sistema HLA, con mayor presencia del asiático y caucásico, atribuido al ori-</p> | <p>gen amerindio de nuestros nativos y al arribo de las migraciones Europeas en tiempos de la colonia.</p> <p>4. Estos hallazgos sugieren que la heterogeneidad étnica en la población panameña puede jugar un papel importante en el riesgo de complicaciones después del trasplante, y que la complejidad de los patrones de mezcla ilustrados en este estudio y en otros deben ser tomados en cuenta por esta variación.</p> |
|--|---|

## REFERENCIAS

- |   |  |
|---|--|
| <p>[1] Bodmer WF: The HLA System: introduction. <i>Br Med Bull</i> 1978;34(3):213-216</p> <p>[2] Braciale TJ, Braciale VL: Antigen presentation: structural themes and functional variations. <i>Immunol Today</i> 1991; 12(4): 124-129.</p> <p>[3] MHC Sequencing Consortium. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. <i>MHC Sequencing Consortium. Nature.</i> 1999; 401:921-923.</p> <p>[4] Hardy H. Mendelian Proportions in a mixed population. <i>Science.</i> 1908; 28:49-50.</p> <p>[5] Benjamin A, Bradley T. Pronostic assays for rejection and tolerance in organ transplantation. <i>Transplant Immunolo.</i> 2005; 14:193-201.</p> <p>[6] Hurley CK, Maiers M. Marsh SG, Oudshorn M. Overview of registries. HLA typing and diversity, and search algorithms. <i>Tissue antigens</i> 2007:69</p> | <p>(Suppl 1):3-5</p> <p>[7] Agrawal S, Khan F, Bharadwaj U. Human genetic variation studies and HLA Class II loci. <i>Int J Immunogenetics</i> 2007;34:247-52</p> <p>[8] Ghodke Y, Joshi K, Chopra A, Patwardhan B. HLA and disease. <i>Eur J Epidemiol</i> 2005;20:475-88</p> <p>[9] Vernaza K, Gómez I, Díaz I, Cuero C, Pérez E, Saavedra M. Frecuencia de genes y haplotipos del Sistema HLA en la Población Panameña. <i>Revista Médica Panamá</i> 1995; 20(3): 116-123</p> <p>[10] Remberger M, Aschan J, Lonnqvist B, et al. An ethnic role for chronic, but not acute, graft-versus-host-diseases after HLA identical sibling stem cell transplantation. <i>European Journal of Haematology</i>, Vol 66, No. 1, pp 50-56, 2001.</p> <p>[11] Baur M, et al. <i>Histocompatilby Testing</i>, 198</p> |
|---|--|