

Frecuencias alélicas y haplotípicas del Sistema HLA Clase I (loci a*, b*) en una población de indígenas Motilón-Barí, Norte de Santander, Colombia

Humberto Ossa¹, Leandra Torres², Loren Nieto²

1. Laboratorio de Genética y Biología Molecular
2. Universidad de Pamplona

Correspondencia: hossa@cable.net.co

Aceptado: 17-11-09 / Recibido: 30-11-09

Resumen

Una de las características más sobresalientes del sistema HLA es el gran polimorfismo, propiedad que le confiere un papel destacado en todos los estudios sobre la variabilidad biológica humana. Con el objeto de determinar las frecuencias alélicas y haplotípicas para el sistema HLA clase I por medio de la técnica PCR-SSP, se seleccionó una muestra de 72 indígenas integrantes de la población Motilón-Bari de las comunidades Ishtoda, Brubucanina, Ocabuda, Suerera, Asabaringcayra y Shubacbarina del Catatumbo, Norte de Santander, Colombia. Las pruebas estadísticas se realizaron mediante los programas Genepop y Arlequín versión 3.1. Los alelos HLA clase I de mayor frecuencia en la población estudiada fueron: A*02(47.14%), A*24(47.14%), B*08(32.86%), B*65(40%). Se compararon las frecuencias alélicas con las reportadas en un estudio previo realizado en el Perijá venezolano, donde se estudiaron los polimorfismos del sistema HLA clase I de la población Bari que habita en el estado de Zulia. Es notable en todos los estudios de la etnia Barí, que a pesar de presentar un polimorfismo de variabilidad reducida, mantiene un alto nivel de heterocigotos.

Palabras clave: frecuencias alélicas, genotipo, haplotipo, HLA clase I, PCR-SSP.

Abstract

Allele and haplotype frequencies of HLA class I (loci a*, b*) in an indigenous population Motilón-Bari, Norte de Santander, Colombia

One of the salient features of the HLA system is the high polymorphism, a property which gives it a prominent role in all studies of human biological variability. In order to determine the allele and haplotype frequencies for HLA Class I by PCR-SSP technique, we selected a sample of 72 indigenous members of the population-Bari Motilón Ishtoda communities, Brubucanina, Ocabuda, Suerera, Shubacbarina Asabaringcayra and Catatumbo, Norte de Santander, Colombia. Statistical tests were performed using software version 3.1 Genepop and Harlequin. HLA class I alleles with higher frequency in the population studied were: A * 02 (47.14%), A * 24 (47.14%), B * 08 (32.86%), B * 65 (40%). Allele frequencies were compared with those reported in a previous study in the Venezuelan Perijá, where we studied the polymorphisms of HLA class I Bari population living in the state of Zulia. It is notable in all studies of ethnic Bari, who despite having a reduced variability polymorphism maintains a high level of heterozygotes.

Keywords: allelic frequencies, genotype, haplotype, HLA class I, SSP-PCR.

Introducción

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) contiene los genes que codifican para el sistema HLA, que se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 6 humano y ocupa una región de 4000 Kb (1). Una de las características más interesantes de este sistema es el gran polimorfismo que posee con la presencia de un amplio número de variantes alélicas de cada uno de los locus genéticos que lo constituyen (2). Su alta variabilidad genética ha sido de gran interés en muchos campos debido a su papel determinante en la respuesta inmune, susceptibilidad o resistencia a enfermedades, especialmente autoinmunes (3).

Actualmente la población colombiana está constituida por tres grupos étnicos mayores: la población mestiza, formada por la mezcla entre caucásoides europeos con amerindios nativos y negroides, que conforman hasta un 85% del total de la población (4), los grupos afroamericanos

representan el 10.6% y las poblaciones indígenas aproximadamente el 3.4% del total de la población colombiana (5). Los Barí, conocidos como Motilones o Dobukubi son una tribu de amerindios que habitan en la Serranía del Perijá, Norte de Santander, área ocupada por más de 20 comunidades localizadas en el límite entre Colombia y Venezuela, Figura 1 (6,7), pertenecen a la familia lingüística Arawak (8), tienen su propia lengua Barí-ara, donde cada palabra representa lo que para ellos significa “*ser auténticos en su relación con la naturaleza y con todo lo que en ella rodea*”. Se encuentran distribuidos en 23 comunidades, de las cuales 6 hicieron parte de esta investigación: Ishtoda ubicada en Tibú y Brubucanina, Ocbabuda, Suerera, Asabaringcayra, Shubacbarina ubicadas en el municipio de Teorema, Norte de Santander (9). Este estudio permitió determinar las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas, el índice de mezcla de la población y asociación con enfermedades genéticamente relacionadas con el HLA como la tuberculosis, Figura 1.

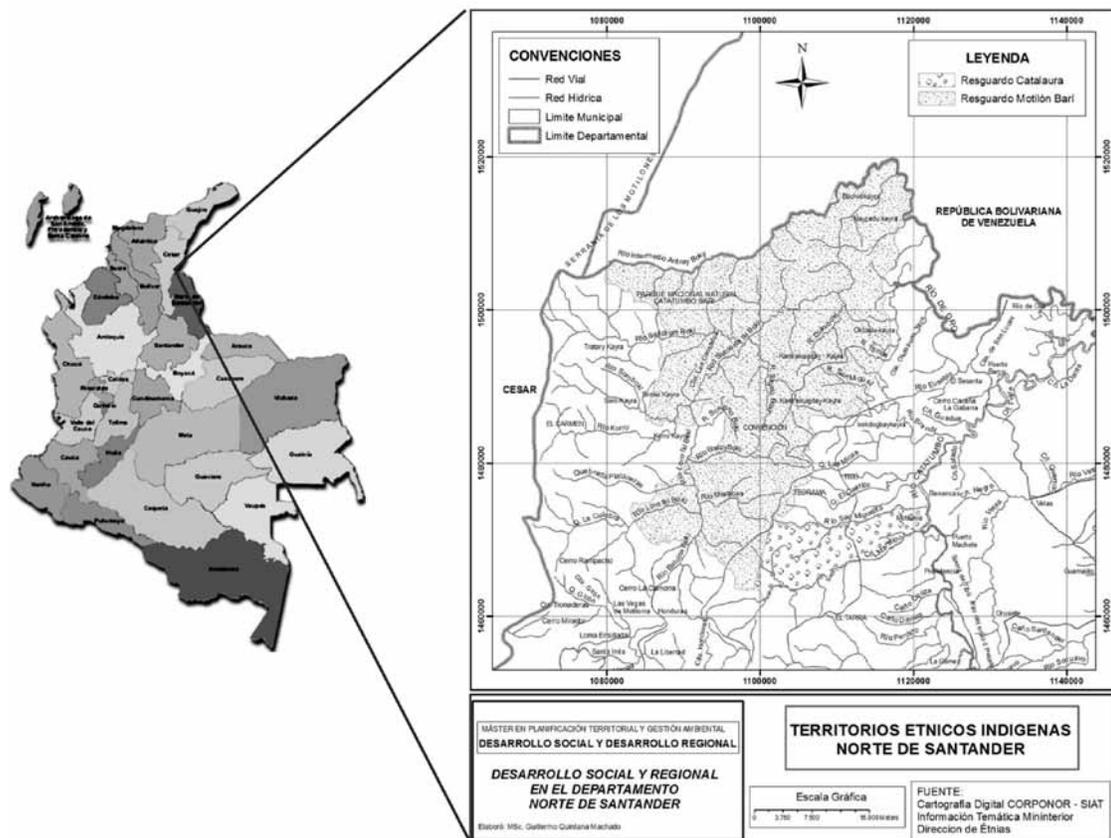


Figura 1. Territorios étnicos indígenas Norte de Santander.

Materiales y métodos

Las muestras de ADN de 72 individuos correspondientes a 12 familias de la étnia Barí fueron muestreadas de la siguiente manera: comunidad Suerera (n=6), Shododra (n=8), Shubabarina (n=30), Axsabaricayra (n=10), Obabura (n=4) y Brubucanina (n=14). El ADN fue extraído según el protocolo Salting Out propuesto por Miller y colaboradores (10), con algunas modificaciones realizadas en el Laboratorio de Genética y Biología Molecular (LGBM). Se tomaron muestras de sangre periférica con EDTA. La tipificación se realizó mediante la técnica de PCR-SSP (Sequence Specific Primers) que consiste en la amplificación de ácidos nucleicos mediante el uso de cebadores alelo-específico. Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron determinadas por estimación de máxima verosimilitud. El equilibrio de Hardy-Weinberg para cada locus y las frecuencias haplotípicas fueron estimados con el paquete de Arlequín versión 3.1.

Resultados

La tipificación HLA clase I de la población indígena Barí mostró la presencia de 4 alelos en HLA-A* y 6 alelos HLA-B*, Tablas 1 y 2. En esta población las frecuencias más altas se observaron para HLA-A*02(47.14%), A*24(47.14%). Para el locus B se observó la mayor frecuencia de los alelos B*65(40%), B*8(32.86%). Las frecuencias correspondientes a los genotipos se muestran en las Figuras 2 y 3 y Tablas 3-4, observando el mayor porcentaje para los genotipos A*24 A*02 y B*65 B*08. Los haplotipos más frecuentes son: A*24 B*65 (32.35%), A*02 B*08 (17.64%) y A*02 B*35 (11.76%), Tabla 5, Figura 4. La población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg para los dos locus estudiados, Tabla 6. El polimorfismo para ambos locus en esta población se encuentra reducido a 4 grupos alélicos del HLA-A A* de los 22 existentes a nivel mundial y 6 de los 40 para el locus B*, tal como se puede observar en la Tabla 7 (11).

Tabla 1. Frecuencias alélicas locus HLA-A*. 2n=

ALELOS	N	%
HLA-A*2	33	0.4714
HLA-A*24	33	0.4714
HLA-A*68	3	0.0429
HLA-A*3	1	0.0143

Tabla 2. Frecuencias alélicas locus HLA-B*. 2n=35

ALELOS	N	%
HLA-B*65	28	0.4000
HLA-B*8	23	0.3286
HLA-B*35	10	0.1428
HLA-B*38	5	0.0714
HLA-B*61	2	0.0286
HLA-B*51	2	0.0286

Tabla 3. Frecuencias genotípicas del locus HLA-A*. 2n=35

LOCUS HLA-A*	FRECUENCIAS
24,2	27
24,24	3
68,2	3
3,2	1
2,2	1

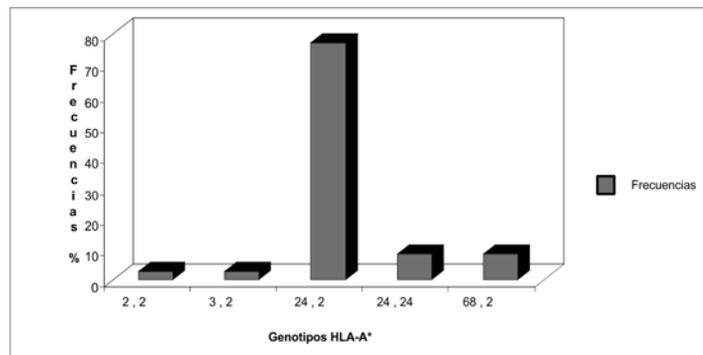


Figura 2. Frecuencias genotípicas del HLA-A*

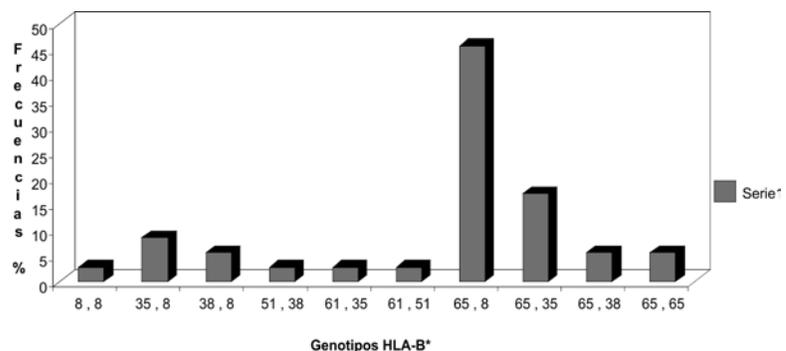


Figura 3. Frecuencias genotípicas del HLA-B*

Discusión

Los resultados obtenidos muestran una alta frecuencia de los alelos A*02(47.14%), A*24(47.14%) y B*65(40%), B*8(32.86%). Estos resultados son similares al estudio realizado a la población Barí del estado de Zulia en el locus A*, donde los alelos de mayor frecuencia fueron A*02(31.67%) y A*24 (25%); en el caso del locus B* se presentan diferencias entre las poblaciones reportándose para el Zulia B*18(30%), B*44(18.33%) y B*35(13.33%), siendo este último el tercer alelo más frecuente también para la población Barí colombiana (12). Dichas diferencias en el locus B* pueden obedecer al distanciamiento entre las dos poblaciones y a la posible mezcla que presentan los Barí venezolanos con caucasoides o la persistencia de un alelo de origen asiático.

Ossa y colaboradores encontraron que en la población colombiana los alelos A*02, A*24

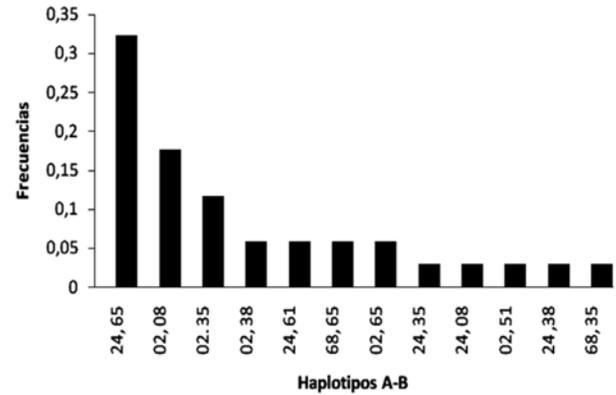


Figura 4. Frecuencias haplotípicas locus HLA-A* y B*

representan el 54% de la diversidad alélica por el locus A* (13). Datos similares son reportados por Cao y su equipo (14) donde muestran que el alelo A*2 es muy frecuente en poblaciones caucásicas, nativos norteamericanos e hispanos. Todos estos resultados mantienen similitud con los encontrados

Tabla 4. Frecuencias genotípicas del locus HLA-B*. 2n=35

LOCUS HLA-B*	FRECUENCIAS
65,8	16
65,35	6
35,8	3
38,8	2
65,38	2
65,65	2
51,38	1
61,35	1
8,8	1
61,51	1

Tabla 5. Frecuencias haplotípicas locus HLA- A* y B*

HAPLOTIPO	FRECUENCIA
24 65	0,325
02 08	0,179
02 35	0,119
02 38	0,058
24 61	0,058
68 65	0,058
02 65	0,058
24 35	0,029
24 08	0,029
02 51	0,029
24 38	0,029
68 35	0,029

Tabla 6. Equilibrio de Hardy Weinberg

LOCUS	χ^2	P<0.05
A*	0.6269	0.005
B*	1.1591	0.0005

Tabla 7. Polimorfismo del Locus HLA-A* y HLA-B*.

POBLACIÓN	POLIMORFISMO	
	LOCUS A*	LOCUS B*
Bari	4	6
Colombiana	19	35
Mundial	22	40

en la población Barí, lo cual muestra la existencia de mezcla entre estas poblaciones. En el locus B* los alelos más frecuentes en la población colombiana son B*35 (19%) y B*51(13%), presentes también en la población Barí colombiana con una frecuencia de 14% y 0.2% respectivamente (13).

Según la segregación gamética de las familias indígenas podemos observar 12 haplotipos diferentes, siendo los más frecuentes A*24 B*65, A*02 B*08, y A*02 B*35. Para la población Barí venezolana los haplotipos más frecuentes son A*2 B*35, A*2 B*15 y A*2 B*18. Estudios realizados por Layrisse y colaboradores, determinaron que el haplotipo A*2 B*35 es frecuentemente encontrado en poblaciones amerindias (15). Los resultados de equilibrio Hardy-Weinberg muestran que la población se encuentra en equilibrio para los dos loci. Yunis y colaboradores (16) analizaron el grupo sanguíneo de los indígenas Motilón-Barí, obteniendo como resultado que dicha población se encuentra en equilibrio a pesar de su reducido polimorfismo observado respecto a la población colombiana y mundial. La presencia elevada de heterocigotos ha sido favorecida por fuerzas selectivas a pesar de la poca variabilidad genética.

Agradecimientos

Al Laboratorio de Genética y Biología Molecular por financiar la investigación. A ASOCBARI y a la población indígena por facilitarnos las muestras que hicieron parte de este estudio.

Referencias

1. Yamamoto F, Kazuo J. Papel de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad en los procesos infecciosos. *Invest Clin.* 2000;52:461-466.
2. Echevarri D. Análisis serológico y molecular del sistema HL g y su relación con la susceptibilidad a Lupus Eritematoso Sistémico (LES) en la población española. Madrid. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 1994.
3. Class F, Roelen DL, Mulder A, Doxiadis II, Oudshoorn M, Heemskerk M. Differential immunogenicity of HLA class I alloantigens for the humoral versus the celular immune response: "towards tailor made HLA mismatching. *Hum Immunol.* 2006;67:424-429.
4. Trachtenberg E, Erlich H, Hollenbach J, Keyeux G, Bernal J, Klitz W. HLA class II variation and linkage disequilibrium in nine Amerindian and three American populations from Colombia. *Results of Expedition Humana.* In: Charron Dominique ed. HLA Genetica diversity of HLA functional and medical implication. Paris:EDK. 1997; 2:200-202.
5. http://www.dane.gov.co/files/censo2005/etnia/sys/colombia_nacion.pdf
6. Layrisse Z, Guedez Y, Dominguez E, Herrera F, Soto M, Balbas O, et al. Extended HLA haplotypes Among the Bari Amerindians of the Perija Range. *Human Immunol.* 1995; 44:28-235.
7. <http://www.desarrollo-social-regional.blogspot.com/>
8. Comunicación escrita por Ashcayra Arobadora representante legal de ASOCBARI.
9. Hortensia G. Somos Bari (ASOCBARI). 1995; 21-61.
10. Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting ADN from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research.* 1988;16:1215.
11. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gv/mhc/ihwg.cgi>
12. Rivera S, Hernandez R, Hassanhi M, Montiel M, Marquez G, Villalobos C, et al. Caracterizacion Molecular de los antígenos HLA-Clase I de la población Barí del estado de Zulia. *Ciencia.*2004;12:258-268.
13. Ossa H, Manrique A, Quintanilla S, Peña A. Polimorfismos del sistema HLA (loci A*, B* y DRB1*) en población colombiana. *NOVA.*2007;5:25-30.
14. Cao K, Hollenbach J, Shi X, Shi W, Chopek M, Fernandez Viña MA. Análisis of the frequencies of HLA-A,B, and C alleles and haplotypes in the five major ethnic groups of de United States reveals high levels of diversity in these loci a contrasting distribution patterns in these population. *Hum Immunol.* 2001;62:1009-1030.
15. Layrisse Z, Guedez Y, Dominguez E, Rodriguez-Larral-De J, Scorza. Extended HLA haplotype among the Bari Amerindians of the Perija tanfe relationship to other tribes based on four-loci haplotype frequencies. *Hum Immunol.*1995;44:228-235.
16. Yunis J, Ossa H, Salazar M, Delgado M, Deulofent, de la Hoz A, et al. Major histocompatibilitis complex class II alleles an haplotypes and blood groups of four Amerindian triles of northern Colombia. *Human Immunol.*1994;41:248-258.