

Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas del sistema HLA clase I y II en donantes de una población del suroccidente colombiano

Allele, genotype and haplotype frequencies of HLA system class I and II in donors in a population in southwestern Colombia

ANA MARÍA ARRUNATEGUI, ADRIANA VILLEGAS, LUZ ÁNGELA OCAMPO
• CALI (COLOMBIA). LIBIA MARÍA RODRÍGUEZ • MEDELLÍN (COLOMBIA).
ABDELMOUNIM BADIH • GRANADA (ESPAÑA)

Resumen

Introducción: la determinación de los alelos que se expresan con mayor frecuencia en una población permite conocer la probabilidad que tiene una persona de encontrar un donante no relacionado compatible en esa población y sirve de referencia para estudios de asociación del HLA con diferentes enfermedades y aplicaciones en estudios antropogenéticos.

Objetivo general: determinar las frecuencias alélicas HLA-A*, B* y DRB1* en una población del suroccidente colombiano.

Diseño: estudio descriptivo retrospectivo.

Material y métodos: estudio descriptivo y retrospectivo en el cual se incluyeron 1230 donantes (vivos y fallecidos) evaluados en el protocolo para trasplante renal y/o de médula ósea de la Fundación Valle del Lili.

La tipificación se hizo por métodos moleculares y el análisis estadístico de las frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas se realizó con los programas genéticos GENEPOP y Arlequín.

Resultados: se identificaron 20, 29 y 13 alelos para los loci HLA-A*, HLA-B* y HLA-DRB1* respectivamente y los alelos más frecuentes fueron A*02 (25%), B*35 (17,7%) y DRB1*04 (23%).

Los haplotipos más frecuentes para dos loci fueron A*24B*35(8,9%), B*35DRB1*04 (8,1%) y A*24DRB1*04 (10,9%) y para tres loci A*24B*35DRB1*04 (5,4%) y A*24B*40DRB1*04 (3,2%).

Conclusión: los alelos que se expresan con mayor frecuencia en la población del suroccidente colombiano están representados por los alelos más comunes en la población colombiana. (*Acta Med Colomb* 2013; 38: 16-21)

Palabras clave: HLA, genotipo, haplotipo, alelos, prueba de histocompatibilidad, frecuencias, suroccidente colombiano

Abstract

Introduction: the determination of the alleles expressed more often in a population allows to know the probability of a person to find a matched unrelated donor in that population and serves as reference for the HLA association studies with different diseases and applications in anthropogenetic studies.

Objective: to determine the allelic frequencies HLA-A*, B* and DRB1* in the Colombia southwestern population.

Design: retrospective descriptive study.

Methods: in this study we included 1230 donors (living and deceased) evaluated within our renal transplantation or bone marrow transplant protocol following at the Fundación Valle del Lili in Cali, Colombia.

Dra. Ana María Arrunategui: Especialista en Patología y Laboratorio Clínico. MSc en Biotecnología. Coordinadora Médica del Laboratorio de Inmunología de Trasplantes, Fundación Valle del Lili; Dra. Adriana Villegas: BSc., MSc. en Inmunología. Laboratorio de Inmunología de Trasplantes Fundación Valle del Lili.; Dra. Luz Ángela Ocampo: BSc. Laboratorio de Inmunología de Trasplantes Fundación Valle del Lili. Cali (Colombia); Dra. Libia María Rodríguez: BSc, MSc. en Epidemiología. Docente de la Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana. Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia); Dr. Abdelmounim Badih: Doctor en Biología, Coordinador Académico del Máster de Biotecnología de la Escuela Superior de Enseñanza Abierta. Granada (España).

Correspondencia. Dra. Ana María Arrunategui.

E-mail: aarrunategui@fcv1.org

Recibido: 20/VIII/2012 Aceptado: 24/I/2013

The typing was made by molecular methods and the statistical analysis of allele, genotype and haplotype frequencies was performed with the genetic programs GENESPOP and Arlequin.

Results: we identified 20, 29 and 13 alleles for the HLA-A*, HLA-B* and HLA-DRB1* locus respectively and the most frequent alleles were A* 02 (25%), B* 35 (17.7%) and DRB1* 04 (23%).

The haplotypes for the two more frequent loci were A* 24B* 35 (8.9%), B* 35DRB1* 04 (8.1%) and A* 24DRB1* 04 (10.9%) and for three loci A* 24B* 35DRB1* 04 (5.4%) and A* 24B* 40DRB1* 04 (3.2%).

Conclusion: the alleles expressed more frequently in the Colombia southwestern population are represented by the most common alleles in the Colombian population. (*Acta Med Colomb* 2013; 38: 16-21)

Keywords: HLA, genotype, haplotype, Alleles, histocompatibility testing, frequencies, southwestern Colombia.

El sistema HLA, de la sigla en inglés (Human Leukocyte Antigen) comprende un grupo de genes funcionalmente relacionados, que se expresan principalmente en las células nucleadas. Estos genes se encuentran en una región genéricamente llamada Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), localizado en el brazo corto del cromosoma 6, que contiene más de 220 genes con diversas funciones muchas de las cuales están relacionadas con proteínas del sistema inmune que intervienen en la respuesta del huésped a infecciones y en el reconocimiento de las células propias. La función de las proteínas codificadas por estos genes es la inducción y regulación de la respuesta inmunológica contra los antígenos extraños mediante la presentación de péptidos antigénicos al receptor del linfocito T (TCR). Dicha interacción HLA-TCR es relevante en la respuesta a trasplantes y en aquellas enfermedades con un notable componente inmunológico.

Por encontrarse físicamente en bloque y heredarse ligados, este conjunto de genes, o haplotipos, constituye la combinación de genes transmitidos en un solo cromosoma proveniente de cada uno de los padres, que se heredan en forma codominante y la frecuencia de recombinación es alrededor de 1%.

El sistema HLA se encuentra en equilibrio genético siguiendo la ley de Hardy Weinberg que dice que las frecuencias genotípicas están determinadas por las frecuencias alélicas de la población y permanecen estables de generación en generación, siempre que la población sea grande, aislada y que los emparejamientos entre individuos se produzca al azar; sin embargo, existen algunas combinaciones de genes en los haplotipos que se presentan con mayor frecuencia de lo que uno se esperaría, basándose solamente en las frecuencias génicas de la población. Este fenómeno recibe el nombre de desequilibrio de ligamento y tiene implicaciones biológicas y clínicas muy importantes, especialmente en la selección de donantes para un trasplante, ya que hay algunos haplotipos en desequilibrio y muchos de ellos son particulares de cada grupo étnico (1, 2). El conocimiento del sistema HLA se ha incrementado enormemente gracias a las técnicas de biología molecular disponibles actualmente (3) llegando a alcanzar más de 7000 alelos (IMGT/HLA).

Aunque existen reportes que incluyen algunas poblaciones de la región, se desconocen las frecuencias HLA en la

población del suroccidente colombiano y dada la alta variación interpoblacional de estas frecuencias es muy importante el conocimiento del perfil genético local.

En el presente estudio, se describen las frecuencias alélicas genotípicas y haplotípicas HLA Clase I (A y B) y Clase II (DRB1) en una población del suroccidente colombiano con el propósito de aportar al conocimiento de la variabilidad genética en la población colombiana (4) y servir de referencia para posteriores estudios de asociación de enfermedades con el sistema HLA (5, 6).

Material y métodos

Población de estudio

Se incluyeron 1230 individuos, donantes (vivos y fallecidos) de ambos sexos del suroccidente colombiano, tipificados por técnicas moleculares para HLA Clase I (HLA-A*, B*) y II (DRB1*). La recolección de muestras se llevó a cabo por la Fundación Valle del Lili entre los años 2000 al 2010.

Todos los donantes vivos han firmado un consentimiento informado como parte del ingreso al protocolo de trasplante, así como los familiares de todos los donantes fallecidos de acuerdo con la legislación vigente en Colombia.

Se realizó inicialmente una depuración de los datos provenientes de nuestra base, incluyendo los que cumplían con los criterios descritos, posteriormente se procedió a la organización de los datos ajustando la tipificación HLA a dos dígitos de acuerdo con la metodología empleada (3), se excluyeron los donantes provenientes de un mismo grupo familiar, ya que tendríamos frecuencias más altas que las esperadas en una población al azar.

Criterios de inclusión

Se incluyeron todos los donantes de la base de datos con información completa, tipificados por técnicas moleculares y procedentes de los departamentos del Valle del Cauca, Cauca, Chocó y Nariño.

Tipificación HLA

El ADN se extrajo a partir de sangre periférica, usando las técnicas de precipitación salina (Salting-Out) y el kit UltraClean DNA Blood Isolation Kit.

La tipificación se realizó por técnicas moleculares, PCR-SSP (Sequence Specific Primers) usando el reactivo ABDR SSPTray de Biotest (Dreieich, Germany) y PCR-SSOP (Sequence Specific Oligonucleotide Probes) INNO-LiPA HLA-A, B, DRB1 Innogenetics (7).

Los resultados se obtuvieron con ayuda de los software Biotest HLA-SSP Typing v1.1 y LiRAS for LiPA HLA v5.0 respectivamente.

Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron determinadas por estimación de máxima verosimilitud y el índice de fijación de Fisher se calculó empleando el paquete de análisis genético Genepop (<http://genepop.curtin.edu.au>) (8, 9). Se evaluó equilibrio de Hardy-Weinberg para cada locus así como el desequilibrio de ligamiento entre loci. Las frecuencias haplotípicas fueron estimadas mediante el algoritmo ELB (Excoffier-Laval-Balding), y para los haplotipos más frecuentes se calculó el desequilibrio de ligamiento para cada par de alelos utilizando el paquete Arlequín versión 3.0. Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

Resultados

Características demográficas

La población estudiada tenía un promedio de edad de 36.6 años (rango de 3.9 a 74.8), 59.3 % fueron hombres y 40,7 % mujeres.

Frecuencias alélicas

Se identificaron 20, 29 y 13 grupos alélicos para los loci A*, B* y DRB1* respectivamente, distribuidos de la siguiente manera:

En el locus HLA-A* los alelos A*02 y A*24 presentaron las mayores frecuencias del 25.3% y 19.7 % respectivamente. Los alelos menos frecuentes fueron el A*69 y A*80 con una frecuencia de 0.2 %; el resto de alelos presentaron una frecuencia entre 0.5 y 5.1%.

En el locus HLA-B*, la especificidad con mayor frecuencia fue el alelo B*35 con un porcentaje del 17.7% le siguieron en frecuencia el B*40 (10.5%) y el B*44 (9.5%). Las frecuencias más bajas fueron para los alelos B*56, B*78 y B*81 (0.1%). No se encontraron los alelos B*46, B*54, B*59, B*67, B*73, B*82 y B*83.

Para el locus HLA-DRB1* se identificaron 13 que constituyen la totalidad de polimorfismos para este locus a nivel mundial. El alelo más frecuente fue el DRB1*04 (23%), seguido por los alelos DRB1*01, 07, 13 y 15 con frecuencias alrededor del 10%. Los alelos HLA-DRB1*10 y 12 presentaron las frecuencias más bajas en la población estudiada (1.6% y 0.3%); los otros alelos se encontraron con frecuencias entre 3.3% al 7%. Tabla 1.

Frecuencias genotípicas

Para el locus HLA-A* se observaron 210 genotipos, 435 para el locus HLA-B* y 91 para el locus HLA-DRB1*. Los

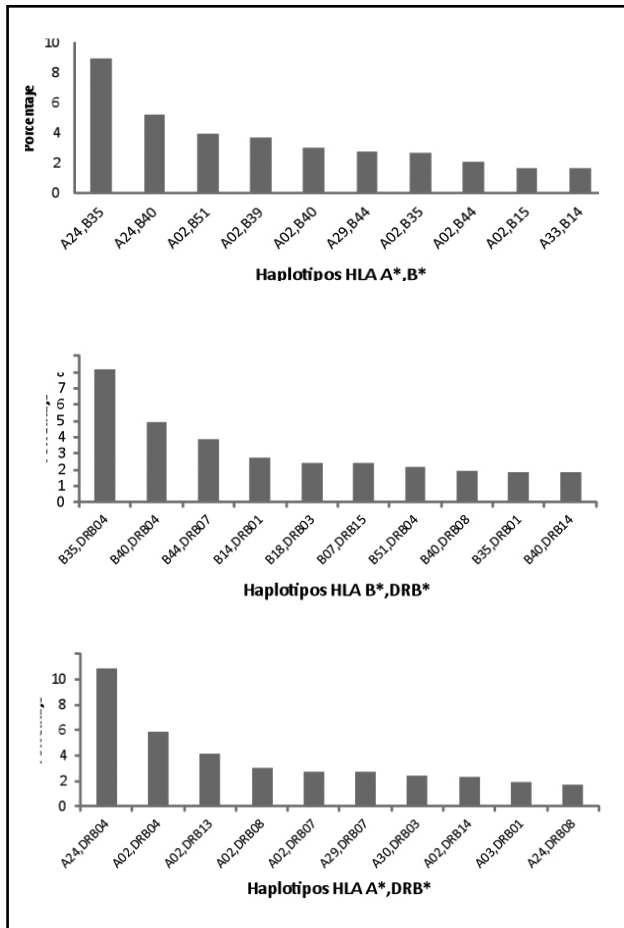
genotipos más frecuentes para el locus HLA- A* fueron: A* 02,24 (11,1%), A*02,02 (7,8%), A*24,24 (4,5%) los más frecuentes para el locus HLA-B* fueron: B*35,40 (4,7%), B*35,35 (3,0), B*35,44 (2,9%) y los más frecuentes para el locus HLA-DRB1* fueron: DRB1*04,04 (6,0%), DRB1*04,07(5,1%) y DRB1*04,13 (4,8%), como se puede observar en la Tabla 2 donde se representan las frecuencias mayores a 1,0% para los alelos HLA-A y -B y mayores al 1.6 para HLA-DRB1.

Con respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W), (HLA-A*, HLA-B* y HLA-DRB1*) en los tres loci se observaron desviaciones estadísticamente significativas entre las frecuencias genotípicas observadas y las esperadas (Tabla 3).

El valor de desequilibrio de ligamiento entre los haplotipos analizados fue entre los loci HLA-A* y HLA-B* ($p=0.04$), entre los loci HLA-B* y HLA-DRB1* ($p=0.02$), así como entre los loci HLA-A* y HLA-DRB1* ($p=0.07$), de modo que cada uno de los pares de loci, se encontraban en desequilibrio, siendo el más significativo entre los loci HLA-A* y DRB1*.

Tabla 1. Alelos HLA-A*, HLA-B*, y HLA-DRB1* estudiados y sus frecuencias en una población del suroccidente colombiano ($n = 1230$)

Alelos HLA-A*	Frecuencia (%)	Alelos HLA-B*	Frecuencia (%)	Alelos HLA-DRB1*	Frecuencia (%)
02	25.3	39	5.7	14	5.4
68	5.1	58	2.5	04	23.0
03	6.2	48	1.4	08	6.9
74	1.1	40	10.5	13	11.2
24	19.7	57	2	07	11.2
26	2.9	44	9.5	01	9.9
31	4.1	35	17.7	11	6.8
11	4.2	18	5.2	09	3.3
23	5.0	50	1.2	15	8.9
32	1.8	07	5.4	16	4.6
33	3.4	51	6.8	03	7.0
01	5.9	53	2.8	10	1.6
30	7.2	38	2.2	12	0.3
66	0.7	14	5.4	-	-
29	4.9	52	1.7	-	-
25	0.7	08	2.8	-	-
69	0.2	15	6.2	-	-
36	0.5	42	1.5	-	-
34	0.9	49	2.6	-	-
80	0.2	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	-	-



Figuras 1 a, b, c. Haplotipos más frecuentes en la población del suroccidente colombiano HLA -A*, B* (a), HLA -B*, DRB1* (b) y HLA -A*, DRB1* (c).

Frecuencias haplotípicas

Los haplotipos más comunes en la población del sur occidente colombiano fueron para HLA A, B: A*24B*35 (8.9%), A*24B*40 (5.2%), para HLA B,DRB :B*35DRB*04 (8.1%), B*40DRB*04 (4.9%) y para HLA A,DRB:

A*24DRB*04 (10.9%), A*02DRB*04 (5.9%), los cuales están representados en la Figura 1 (1a HLA-A, -B, 1b HLA-B, -DRB1 y 1c HLA-A, -DRB1).

Haplotipos A*/B*/DRB1*

En la Figura 2, encontramos los 20 haplotipos más comunes, siendo el A*24B*35DRB1*04 el más frecuente con un porcentaje de 5.4%, le sigue en frecuencia el A*24B*40DRB1*04 con un 3.25%.

Discusión

Este estudio proporciona por primera vez, información sobre la distribución de los alelos HLA clase I y II en la población del suroccidente colombiano que se encuentra muy acorde a lo publicado en otras regiones del país (10-12).

Se encontraron 62 de los 69 grupos alélicos descritos para HLA A*, B* y DRB1* reportados a nivel mundial (13).

Los alelos más comunes para el locus HLA-A* fueron A*02 y A*24 donde se observó una distribución desproporcionada de las frecuencias alélicas, donde estos dos alelos representan el 45% del polimorfismo para este locus, porcentajes similares a lo observado en otras poblaciones colombianas (10-15), latinoamericanas (16-18) y caucásicas (19).

Se ha encontrado una alta frecuencia del alelo A*02 en estudios de grupos de hispanos en Estados Unidos (20, 21), como en poblaciones europeas (22), grupos raciales de los cinco continentes (23) y en afroamericanos colombianos (San Basilio de Palenque) (24).

El alelo A*24 (19.7%) ha sido reportado en un porcentaje alto en la población indígena Kogui de la Sierra Nevada de Santa Marta (23).

Los alelos A*30 (7.2%) y el A*03 (6.2%) encontrados en nuestra población se han descrito en frecuencias un poco más altas de 10% y 9.2% respectivamente, en diferentes estudios en afroamericanos (24).

Al igual que lo reportado por Arias-Murillo Y, *et al.* (14) el alelo A*43 no se encontró en este estudio.

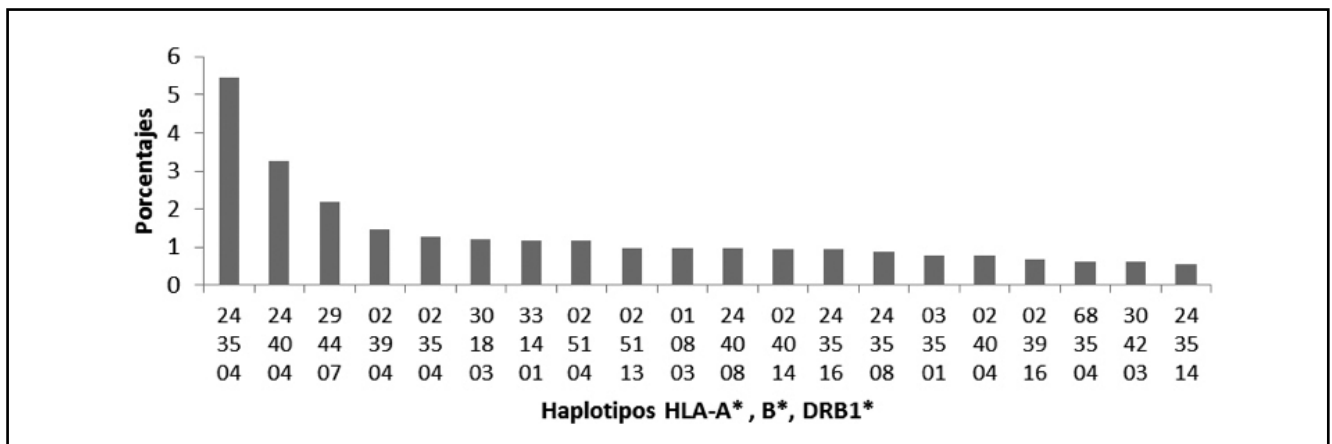


Figura 2. Haplotipos HLA-A*, B*, DRB1* más frecuentes.

Tabla 2. Frecuencias genotípicas en la población del sur occidente colombiano.

Genotipo HLA-A*	Obs.	%	Genotipo HLA-B*	Obs.	%	Genotipo HLA-DRB1*	Obs.	%
02, 24	137	11.1	35, 40	59	4.7			
02, 30	42	3.4	35, 44	36	2.9	04, 07	63	5.1
02, 03	39	3.1	35, 51	31	2.5	04, 13	59	4.8
02, 68	36	2.9	07, 44	25	2.0	03, 04	53	4.3
03, 24	32	2.6	18, 35	25	2.0	04, 14	49	4.0
02, 33	31	2.5	15, 44	24	1.9	01, 04	47	3.8
02, 29	29	2.3	14, 35	23	1.8	04, 15	42	3.4
23, 24	28	2.2	35, 39	21	1.7	01, 07	37	3.0
24, 30	27	2.1	15, 35	21	1.7	13, 15	36	2.9
24, 68	24	1.9	44, 51	19	1.5	04, 08	33	2.7
02, 23	22	1.7	39, 44	18	1.4	01, 13	29	2.4
01, 24	22	1.7	39, 40	18	1.4	04, 11	25	2.0
24, 29	21	1.7	07, 35	18	1.4	08, 13	23	1.9
02, 31	20	1.6	15, 40	17	1.3	01, 11	23	1.9
11, 24	18	1.4	18, 40	16	1.3	01, 11	23	1.9
01, 02	17	1.3	08, 35	16	1.3	07, 13	22	1.8
02, 11	15	1.2	18, 51	15	1.2	07, 13	22	1.8
03, 30	14	1.1	35, 49	14	1.1	07, 15	21	1.7
24, 31	14	1.1	14, 44	14	1.1	01, 15	21	1.7
			07, 40	14	1.1	07, 15	21	1.7
						01, 15	21	1.7

Frecuencias genotípicas > 1% para los alelos HLA-A y HLA-B y > 1.6% para HLA-DRB1*

Tabla 3. Equilibrio Hardy-Weinberg.

Locus	Heterocigotos esperados	Heterocigotos observados	P*	Fis**
HLA-A*	0.82602	0.87177	<0.0001	+0.0523
HLA-B*	0.89268	0.92318	<0.0001	+0.0330
HLA-DRB1	0.86179	0.88426	<0.0001	+0.0254

*p= valor de probabilidad
** Fis= índice de fijación intrapoblacional de Fisher

El locus HLA-B* es el más polimórfico del sistema HLA y fue donde se encontró la más alta variabilidad genética. Los alelos más frecuentes fueron B*35(17.7%), B*40 (10.5%) y B*44 (9.5%), lo que representa 37.7% del polimorfismo para este locus. El alelo más frecuente fue el B*35 con un porcentaje del 17.7% que coincide con lo encontrado en otras poblaciones colombianas (10-15) como Bogotá, Medellín y el Huila, así como en estudios en poblaciones de Latinoamérica (16-18) y en poblaciones hispanas en los Estados Unidos (25, 26).

La frecuencia del alelo B*40 (10.5%) es similar a la reportada en el estudio de Fleischhauer *et al.* en una población mestiza de Cali (27). Los alelos HLA-B*07, 15, 18, 39 y 51 representan el 29.3 % de la variación, y junto con los antes mencionados alelos B*35, B*40 y B*44 dan un 67% de variación total para este locus en la población estudiada.

No se encontraron los alelos B*59, B*67, B*73, B*82 y B*83 como tampoco el B*46 y 54 reportados en población japonesa.

Con respecto al locus HLA –DRB1* los alelos DRB1* 01, 04, 07, 13 y 15 fueron los más comunes y son los que predominan en la población hispánica y sus frecuencias fueron muy parecidas a las reportadas por Arias-Murillo Y, *et al.* (14) y Rodríguez L, *et al.* (10). El DRB1* 04 fue el alelo con la frecuencia más alta (23%), similar a la reportada por Ossa H *et al.* (11), en la población de Bogotá, también es el alelo con la frecuencia más alta en población de Uruguay (16) y junto con los antes mencionados representan el 64.2% del polimorfismo de este locus.

El genotipo HLA- A*02,24 con una frecuencia de 11.1% en nuestro estudio, es también el genotipo más frecuente en otras poblaciones colombianas (10-12), al igual que en la población hispánica de USA (12.1%) y en nativos norteamericanos (23.7%) (25). Le sigue el A*02,02 (7.8%), que es muy frecuente en afroamericanos según el estudio en cinco poblaciones de Estados Unidos (25) y el HLA-B*35.40 (4.7%) es también el más frecuente en el grupo de Huila (12)

El no cumplimiento de Hardy-Weinberg y el Desequilibrio de ligamento encontrado en la población analizada, donde hay menos heterocigotos de lo esperado probablemente pueda deberse al efecto de endogamia, presencia de alelos no detectados con la técnica utilizada, donde se

asigna un solo alelo, y si no hay un estudio completo que incluya los padres no se puede determinar si es homocigoto.

Los haplotipos (de dos loci) A*24B*35 (8.9%), B*35DRB*04 (8.1%) y A*24DRB*04 (10.9%), son los de mayor frecuencia y coincide con los reportados por otros grupos en el país (10, 12) aunque las frecuencias de nuestro estudio son un poco más altas con respecto a las de Medellín (10), quienes reportan 7.7%, 6.4% y 8.9% respectivamente, para cada haplotipo.

El haplotipo (de tres loci) A*24B*35DRB1*04 es el más frecuente con un porcentaje de 5.4%, lo cual coincide también con el reportado por el grupo de Medellín (10).

Conclusiones

Los alelos que se expresan con mayor frecuencia (A*02, A*24, B*35, DRB1*04) en la población del suroccidente colombiano están representados por los alelos más comunes en la población colombiana como también en la latinoamericana, europea y caucásica.

Por último y lo más importante es que este estudio nos permitió conocer las frecuencias génicas de nuestra población, lo que ayudará a calcular la probabilidad que tiene un receptor altamente sensibilizado-hipersensibilizado, que se encuentre en lista de espera para trasplante renal, de encontrar un donante compatible en el suroccidente colombiano.

Nuestro estudio junto con los otros realizados en diferentes regiones del país será un aporte muy importante para ayudar a consolidar el perfil genotípico en la población colombiana.

Agradecimientos

Queremos agradecerle al doctor Luis Fernando García de la Universidad de Antioquia por impulsarnos a realizar este trabajo y a todas las personas que con su apoyo no permitieron culminarlo con éxito.

Referencias

1. Robinson J., et al. The IMGT/HLA database. *Nucleic Acids Research* 2011; **39**: D1171-D1176.
2. Alper CA, Larsen CE, Dubey DP, Awdeh ZL, Fici DA, Yunis EJ. The haplotype structure of the human major histocompatibility complex. *Hum Immunol* 2006; **67**: 73-84.
3. Bonett-Rosello L, Martínez-Córdova Z. Los métodos serológicos y moleculares en la tipificación de los antígenos de leucocitos humanos. Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. Distrito Federal, México. *Bioquímica* 2004; **29(4)**: 126-130.
4. Ávila-Portillo LM, Carmona A., Franco L, Briceno I, Casas MC, Gomez A. Bajo polimorfismo en el sistema de antígenos de leucocitos humanos en población mestiza colombiana. *Univ Med* 2010; **51(4)**: 359-370.
5. 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.
6. 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.

7. SGE Marsh, ED Albert, WF Bodmer, RE Bontrop, B Dupont, HA Erlich, M Fernandez-Vinˆa, DE Geraghty, R Holdsworth, CK Hurley, M Lau, KW Lee, B Mach, M Maiers, WR Mayr, CR Müller, P Parham, E W Petersdorf, T Sasazuki, J L Strominger, A Svejgaard, PI Terasaki, JM Tiercy & J Trowsdale. Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens* 2010; **76**: 161-164.
8. Raymond M, Rousset F. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and Ecumenicims. *The Journal of Heredity* 1995; **86**: 248-9.
9. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population Genetics data analysis. *Evol Bioinform* 2005; **1**: 47-50.
10. Rodríguez L, Giraldo M, García N, Velásquez L, Paris S, Álvarez C, M; García Luis F. Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 en donantes fallecidos, Medellín, Colombia. *Biomédica* 2007; **27**: 537-47.
11. Ossa H, Manrique A, Quintanilla S, Peña A. Polimorfismos del sistema HLA (loci A*, B* y DRB1*) en población colombiana. *NOVA* 2007; **5(7)**: 1-100
12. Bermeo S, Guerra María T, Ostos H. Frecuencias de HLA-A-B Y DRB1 en una población de Huila- Colombia. *Revista Facultad de Salud Universidad Surcolombiana RFS* 2010; **2(1)**: 9-19.
13. Weir BS. Genetic Data Analysis II. 2da. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 1996.
14. Arias-Murillo Y, Castro-Jimenez M, Rios-Espinosa M, Lopez-Rivera J, Echeverry-Coral S, Martínez-Nieto O. Analysis of HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 allelic, genotypic, and haplotypic frequencies in Colombian population. *Colombia Médica* 2010; **41**: 4.
15. 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.monografias.com/trabajos/12/arthla/arthla.shtml>?
16. Bengochea M, Álvarez I, Hidalgo PC, Cabrera A, Senatore O, Toledo R, et al. HLA A, -B, -DR en receptores de trasplante de medula osea en Uruguay. *Rev Med Uruguay* 2003; **19**: 149-58.
17. Alfaro Emma L , Dipierri Jose E, Gutierrez Nestor, Vullo Carlos M. Frecuencias génicas y haplotípicas del sistema HLA en el Noroeste argentino. *Antropo* 2004; **6**: 15-23.
18. De Pablo R, Beraun Y, Nieto A, Calzada J, Rementería M, Sanz L, Lopez-Nevot M, Martín J. HLA class I and class II allele distribution in the Peruvian population. *Tissue Antigens* 2000; **56**: 507-14.
19. Simons M, Mervart H. HLA in non – European Caucasoids. Proceedings of the eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference 1991. Oxford science publication. Nueva York. EE.UU.
20. Cao K, Hollenbach J, Shi X, Shi W, Chopek M, Fernandez M. Analysis of the frequencies of HLA-A,B and C Alleles and Haplotypes in the Five Major Ethnic Groups of the United States Reveals High Levels of Diversity in These Loci and contrasting distribution Patterns in These Populations. *Human Immunology* 2000; **62**: 1009-30.
21. K Cao, JA Hollenbach, XJ Shi, WX Shi, M Chopek, MA Fernandez-Vina. HLA-A,-B and Cw Allele Frequencies in Hispanic Population from the USA. *Human Immunology* 2004; **65**: 1206-08.
22. Comas D, Mateu E, Calafell F, Perez-Lezaun A, Martinez-Arias R, Bosch E, Bertranpetit J. Estudio de la variabilidad de los genes del sistema HLA en dos poblaciones de la Península Ibérica. Secretariado de Publicaciones, Universidad de León. España .2000 I.S.B.N.84-7719-861-6.
23. D Middleton, F Williams, A Meenagh, AS Daar, C Gorodezky, M Hammond, E Nascimento, I Briceno, MP Perez. Analysis of the Distribution of HLA-A Alleles in Populations from Five continents. *Human Immunology* 2000; **61**: 1048-1052.
24. Arnaiz-Villena, R Reguera, C Parga-Lozano, S. Abd-El-Fatah-Khalil. HLA Genes in Afro-American Colombians (San Basilio de Palenque): *The open Immunology Journal* 2009; **2**: 59-66.
25. Béatrice Pédrón, Karima Yakouben, Valérie Guérin, Enwar Borsali, Anne Auvrignon, Judith Landman, Corinne Alberti, Guy Leverger, André baruchel, and Ghislaine Sterkers. HLA Alleles and Haplotypes in French North African Immigrants. *Human immunology* 2006; **67**: 540-550.
26. F Williams, A Meenagh, C Darke, A Acosta, AS Daar, C Gorodezky, M Hammond, E Nascimento, D Middleton. Analysis of the Distribution of HLA-B Alleles in Populations from Five continents. *Human Immunology* 2001; **62**: 645-650.
27. Fleischhauer K, Zino E. HLA-A, B and -Cw allele frequencies in two populations from Colombia. *Human Immunology* 2004; **65**: 906-8.