

FRECUENCIAS DE ANTÍGENOS DE HLA EN LA POBLACIÓN DE MAR DEL PLATA Y LA ZONA CONCURRENTES AL HOSPITAL PRIVADO DE COMUNIDAD

Virginia Gonzales¹, José Luis Ianiro¹

RESUMEN

El conocimiento de las frecuencias alélicas y haplotípicas de los antígenos de histocompatibilidad en la Argentina es limitado. Al sur de la ciudad de La Plata no existen datos reportados de frecuencias alélicas o de desequilibrios de unión.

El objetivo del presente trabajo fue analizar en forma retrospectiva 411 muestras de pacientes en tratamiento de diálisis, potenciales donantes de órganos y personas en estudios de filiación concurrentes al Hospital Privado de Comunidad de la ciudad de Mar del Plata, con el fin de determinar las frecuencias de antígenos de histocompatibilidad de clase I, de clase II y evaluar posibles desequilibrios de unión entre los haplotipos encontrados.

Los antígenos de clase I fueron tipificados por medio de técnicas serológicas y los de clase II por técnicas de biología molecular (SSP). Posteriormente se calcularon las frecuencias alélicas y los desequilibrios de unión.

Dentro de los antígenos de clase I, en el locus A el alelo A2 fue el más frecuente (22,7%), ningún otro llegó al 10%. En el locus B los alelos B35 (13,4%), B44 (10,6%) y B51 (9,1%) fueron los más destacados. En clase II, los alelos DR1 (11,3%), DR4 (19,3%), DR11 (10,1%), DR13 (12,2%), y DR17 (10,1%) se encontraron entre los más frecuentes.

El haplotipo estadísticamente más significativo fue el A3/B7, un haplotipo característico de poblaciones caucásicas; otros haplotipos con desequilibrios de unión típicos de población caucásica encontrados fueron: A2/B44, A29/B44 y A30/B18. También se hallaron desequilibrios de unión en varios haplotipos característicos de población amerindia (A28/B35, A31/B39 y A31/B62).

ABSTRACT

The knowledge of allele and haplotype frequencies of histocompatibility antigens in Argentina is limited. South of the city of La Plata there are no data reported allele frequencies or linkage disequilibrium.

The aim of this study was to retrospectively analyze 411 samples in dialysis patients, potential organ donors and people in parentage studies concurrent to Hospital Privado de Comunidad of the city of Mar del Plata, in order to determine the frequencies histocompatibility antigen class I, class II and evaluate possible linkage disequilibrium between haplotypes found.

Class I antigens were typed using standard serological and class II by molecular biology techniques (SSP). Then we calculated the allele frequencies and linkage disequilibrium.

Within the class I antigens in locus A allele A2 was the most frequent (22.7%), no other reached 10%. In the B locus alleles B35 (13.4%), B44 (10.6%) and B51 (9.1%) were the highlights. In class II alleles DR1 (11.3%), DR4 (19.3%), DR11 (10.1%), DR13 (12.2%), and DR17 (10.1%) were found between more frequent.

The statistically most significant haplotype A3/B7 was a characteristic of Caucasian populations haplotype, other haplotypes with typical linkage disequilibrium Caucasian population were found: A2/B44, A29/B44 and A30/B18. Linkage disequilibrium were also found in several characteristic of Amerindian haplotypes (A28/B35, A31/B39 and A31/B62).

INTRODUCCIÓN

El sistema HLA, codificado por los genes del Complejo Mayor de Histocompatibilidad, es un complejo genético altamente polimórfico por lo que se ha utilizado como una herramienta de gran versatilidad en el estudio de la variabilidad inter e intrapoblacional, así como en cuestiones relacionadas con la inmunogenética, genética forense y susceptibilidad a enfermedades¹.

Además, con el advenimiento de la biología molecular se ha incrementado el número de alelos y con ellos su polimorfismo y, como consecuencia de esto, su poder discriminativo.

En Argentina, en lo que respecta a estudios poblacionales utilizando el sistema HLA, son escasos los realizados en población urbana, siendo la composición de estas muy variada debido al menor o mayor aporte migratorio que cada urbe ha recibido en el pasado²⁻⁴.

En Mar del Plata no hay estudios poblacionales a la fecha y, si bien la población estudiada es exclusivamente la que ha concurrido al Hospital Privado de Comunidad, podría ser un acercamiento a la composición genética general de los pobladores de Mar del Plata y la zona. Resulta interesante poder usar estos datos para compararlos con los ya existentes en otras localidades del país.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 411 personas de ambos sexos que concurrieron al Hospital Privado de Comunidad de la ciudad de Mar del Plata entre los años 2003 y 2011. La muestra estaba formada por pacientes en tratamiento de diálisis, potenciales donantes de órganos y personas en estudios de filiación.

En todos los casos se realizó la tipificación de los antígenos de histocompatibilidad de clase I (HLA- A y B) mediante la técnica de microlinfocitotoxicidad descriptas por Terasaki y modificadas por el NIH (5), utilizando placas del Collaborative Transplant Study (CTS), dirigido por el Dr. G. Opelz (Heidelberg, Alemania).

¹ Servicio de Laboratorio. Área de Inmunología e Histocompatibilidad. Hospital Privado de Comunidad. Mar del Plata. Contacto: virginiagonzales@hotmail.com

Tabla I. Frecuencias alélicas obtenidas en nuestro Laboratorio.

locus A			locus B			locus DR		
especificidad	n	frecuencia	especificidad	n	frecuencia	especificidad	n	frecuencia
A1	68	8,3	B7	60	7,3	DR1	38	11,3
A2	187	22,7	B8	39	4,7	DR103	5	1,5
A3	68	8,3	B13	12	1,5	DR4	65	19,3
A11	54	6,6	B14	42	5,1	DR7	32	9,5
A23	20	2,4	B18	49	6	DR8	20	6
A24	75	9,1	B27	18	2,2	DR9	3	0,9
A25	10	1,2	B35	110	13,4	DR10	7	2,1
A26	33	4	B37	6	0,7	DR11	34	10,1
A28	72	8,8	B38	17	2,1	DR12	3	0,9
A29	33	4	B39	46	5,6	DR13	41	12,2
A30	39	4,7	B41	16	1,9	DR14	12	3,6
A31	61	7,4	B42	3	0,4	DR15	30	8,9
A32	26	3,2	B44	87	10,6	DR16	12	3,6
A33	5	0,6	B45	7	0,9	DR17	34	10,1
A34	5	0,6	B46	0	0	DR18	0	0
A36	1	0,1	B47	3	0,4	TOTAL	336	100
A66	1	0,1	B48	0	0			
AX	64	7,8	B49	25	3			
TOTAL	822	100	B50	9	1,1			
			B51	75	9,1			
			B52	5	0,6			
			B53	14	1,7			
			B54	0	0			
			B55	7	0,9			
			B56	6	0,7			
			B57	21	2,6			
			B58	9	1,1			
			B60	34	4,1			
			B61	16	1,9			
			B62	30	3,6			
			B63	5	0,6			
			B70	2	0,2			
			B73	1	0,1			
			B75	1	0,1			
			BX	47	5,7			
			TOTAL	822	100			

A un subgrupo (168 individuos) se le realizó además la tipificación para antígenos de histocompatibilidad de clase II (HLA-DRB1) por medio de técnicas de biología molecular (SSP-PCR: Sequence Specific Primer), con primer del CTS.

Para el análisis de los desequilibrios de unión y de las frecuencias haplotípicas se descartaron aquellos individuos que tenían un vínculo sanguíneo directo, realizándose los cálculos sobre un total de 113 pacientes (226 haplotipos).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el programa Statdisk 10.4.0., utilizando la distribución de Poisson en el cálculo de los desequilibrios de unión y el test de χ^2 para la comparación de las frecuencias alélicas de nuestra población con las de los datos disponibles.

RESULTADOS

En los locus A, B y DRB1 se estudiaron 17, 34 y 15 especificidades respectivamente de un total de 822, 822 y 336

Tabla II. Comparación de los valores del locus A. En negrita se resaltan los valores significativos.

Especificidad	n	n teórico	n esperado	Chi ²
A1	68	1067	87,61	2,1
A2	187	2571	211,1	1,66
A3	68	782	64,21	0,47
A11	54	574	47,13	1
A23	20	210	17,24	0,66
A24	75	1217	99,93	2,49
A25	10	262	21,51	2,48
A26	33	368	30,22	0,51
A28	72	573	47,05	3,64
A29	33	520	42,7	1,48
A30	39	370	30,38	1,56
A31	61	360	29,56	5,78
A32	26	360	29,56	0,65
A33	5	92	7,55	0,93
A34	5	125	10,26	1,64
A36	1	10	0,82	0,2
AX	64	538	44,17	2,98
TOTAL	821	9999		

alelos respectivamente, obteniendo las frecuencias alélicas mostradas en las tablas I.

Los datos obtenidos de las diferentes especificidades de los locus A y B se compararon con datos disponibles del Workshop Latinoamericano de Histocompatibilidad (tablas II y III)⁶. Las especificidades de los antígenos de clase II fueron comparadas con los datos del PRICAI (tabla IV)³.

Los haplotipos fueron evaluados utilizando el estadístico de Poisson, encontrándose desequilibrio de unión en los haplotipos listados en la tabla V.

DISCUSIÓN

La tabla de frecuencias alélicas (Tabla I) muestra un perfil similar de los alelos más frecuentes, A2 (22,7%), B35 (13,4%), B44 (10,6%) y B51 (9,1%), a las frecuencias halladas en el resto del país^{2,4} y en el Workshop Latinoamericano⁶ y otros países latinoamericanos⁷⁻¹⁰. Si bien algunas muestras pertenecen a individuos emparentados, las mismas resultan adecuadas para indagar las particularidades genéticas y étnicas de nuestra población, ya que la consanguinidad en una muestra tiene poco efecto sobre la estimación de las frecuencias alélicas, provocando sobre todo un aumento en la variancia de las estimaciones².

Los valores hallados en los locus HLA-A y HLA-B de nuestra población fueron comparados con las tablas del Workshop Latinoamericano⁶ mientras que los del locus HLA-DR se compararon con datos del PRICAI³ encontrándose diferencias significativas ($\text{Chi}^2 > 1,96$) en los alelos destacados en negrita en las tablas II, III y IV. Estos valores fueron cotejados con los hallados en distintas zonas del país. En forma general nuestros datos son muy similares a los hallados en el Noroeste Argentino² y en la región de Cuyo⁴, notándose ciertas discrepancias con los de La Plata y Buenos Aires⁴.

En particular se observa que la frecuencia del alelo A28 (Antígeno frecuente en poblaciones amerindias) se asemeja a la hallada en la región de Cuyo y del NOA, siendo superiores a las de La Plata y Buenos Aires, y, más aún a los del Workshop.

Tabla III. Comparación de los valores del locus B.

Especificidad	n	n teórico	n esperado	Chi ²
B7	60	704	57,46	0,34
B8	39	422	34,44	0,78
B13	12	164	13,38	0,38
B14	42	372	30,36	2,11
B18	49	449	36,64	2,04
B27	18	275	22,44	0,94
B35	110	1318	107,57	0,23
B37	6	195	15,91	2,49
B38	17	247	20,16	0,7
B39	46	420	34,28	2
B41	16	77	6,28	3,88
B44	87	1096	89,45	0,26
B45	7	134	10,94	1,19
B47	3	31	2,53	0,3
B48	0	5	0,41	0,64
B49	25	243	19,83	1,16
B50	9	274	22,36	2,83
B51	75	905	73,86	0,13
B52	5	143	11,67	1,95
B53	14	179	14,61	0,16
B54	0	56	4,57	2,14
B55	7	119	9,71	0,87
B56	6	26	2,12	2,66
B57	21	118	9,63	3,66
B58	9	205	16,73	1,89
B60	34	145	11,83	6,44
B61	16	397	32,4	2,88
B62	30	347	28,32	0,32
B63	5	102	8,32	1,15
BX	47	818	66,76	2,42
TOTAL	815	9986		

Tabla IV. Comparación de los valores del locus DRB1. En negrita se resaltan los valores significativos.

Especificidad	n	n teórico	n esperado	Chi ²
DR1	38	356	31,72	1,12
DR4	65	644	57,38	1,01
DR7	32	427	38,04	0,98
DR8	20	296	26,37	1,24
DR9	3	83	7,4	1,62
DR10	7	57	5,08	0,85
DR11	34	469	41,79	1,2
DR12	3	42	3,74	0,38
DR13	41	431	38,4	0,42
DR14	12	220	19,6	1,72
DR15	30	283	25,21	0,95
DR16	12	151	13,45	0,4
DR17	34	252	22,45	2,44
DR18	0	4	0,36	0,6
TOTAL	331	3715		

Algo similar se ve en el alelo A31, pero en este caso la frecuencia en La Plata fue mayor⁴.

En el locus B notamos buena concordancia con los valores hallados en las distintas zonas del país existiendo diferencias

Tabla V. Haplotipos con desequilibrio de unión

haplotipo	frecuencia	Poisson
A2 / B44	4,42	0,04000
A3 / B7	1,57	0,00097
A11 / B35	2,55	0,02900
A26 / B38	0,75	0,03000
A28 / B35	3,96	0,01200
A29 / B44	0,89	0,01000
A30 / B18	0,63	0,02220
A31 / B39	0,74	0,03200
A31 / B62	0,49	0,01200

con la tabla del Workshop Latinoamericano. Esta diferencia es muy notoria en el alelo B60, en el que nuestro valor es semejante al resto del país.

En el locus DR el único alelo con diferencias significativas es el DR17, esta diferencia no se observa con otros datos de la misma Ciudad de Buenos Aires (Hospital Italiano)⁴, mientras que en La Plata y en Cuyo se encontraron valores intermedios⁴.

En la Tabla V se muestran los haplotipos que presentan desequilibrio de unión. Cuatro de ellos (A2/B44, A3/B7, A29/B44 y A30/B18) son desequilibrios típicos de caucásicos, mientras que otros tres (A28/B35, A31/B39 y A31/B62) son marcadores amerindios^{2,6,8,9}.

A pesar de haber encontrado un alto componente amerindio en los haplotipos hallados se destaca el haplotipo A3/B7 con mayor desequilibrio de unión, el cual es frecuente en poblaciones caucásicas europeas.

CONCLUSIONES

De los datos obtenidos podemos concluir que la población de Mar del Plata y la zona estudiada posee una distribución genética compuesta por haplotipos típicos caucásicos así como de haplotipos típicos amerindios, lo cual es concordante con estudios poblacionales realizados en el Partido de General Pueyrredón¹¹, en los cuales se destaca que en el Censo del año 1947 la población estaba compuesta por un 20,3% de personas oriundas de países extranjeros (Italia y España mayoritariamente) y alrededor del 14,3% de personas procedentes de otras provincias argentinas (sobre todo de la zona Noroeste). En el Censo de 1991 los migrantes del interior del país aumentaron su volumen en más de cinco veces y su porcentaje creció a un 18,2 %. Esto explicaría la elevada frecuencia del alelo A28 así como de los haplotipos A28/B35, A31/B39 y A31/B62 muy similar a la de regiones del interior.

Si bien en términos generales los alelos más frecuentes tienen una correlación buena con los datos del Workshop Latinoamericano de Histocompatibilidad, ciertos alelos, tales como A28, A31, B41 y B60 muestran discrepancias notorias. Por tal motivo sería conveniente en el futuro la utilización de datos locales ya sea en estudios poblacionales y/o médicos en los que se deban utilizar frecuencias alélicas.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la colaboración del Dr. Sergio Gonorazky y de la Dra Lila Ricci.

BIBLIOGRAFÍA

- Noel R. Rose et al. Manual of Clinical Laboratory Immunology, Washington, D.C.: 5th de. American Society for Microbiology, 1997.
- Alfaro E., Dipierri J., Gutierrez N., Vullo C. "Frecuencias génicas y haplotípicas del sistema HLA en el Noroeste argentino". *Antropo*, 2004; 6, 15-23.
- Raimondi, E. H. Argentina Normal. Comunicación personal. PRICAI (Primer Centro Argentino de Ig).
- Gonzalez Galarza F.F, Christmas S., Middleton D., Jones A. Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide population. Allele*Frequencies in Worldwide Populations. <http://www.allelefreqencies.net/default.asp>
- Terasaki P I and Park M. S.. "Manual of Tissue Typing Techniques, National Institut of Allergy and Infectious Diseases", Bethesda, 1979.
- Cuarto Workshop Latinoamericano de Histocompatibilidad, Buenos Aires, Argentina, 1985.
- Barsuna, Laura. "Determinación de HLA en estudios de poblaciones y migraciones humanas". *Rev. med.Hosp.Nac.Niños (Costa Rica)*. v.38 n. 1-2 San José 2003.
- Rodriguez Libia, Giraldo Mabel, Garcia Natalia, Velazquez Laura, Paris Sara, Alvarez Cristiam y Garcia Luis. "Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 en donantes fallecidos Medellín Colombia". *Biomédica*, diciembre 2007, vol.27, 537-547. número 004.
- Bengochea Milka, Alvarez Inés y Hidalgo Pedro C. "HLA-A, -B, -DR en receptores de transplante de médula ósea en Uruguay". *Rev. Méd. Urug.* v.19 n.2 Montevideo ago. 2003.
- Fuentes Angie P. "frecuencias génicas del sistema HLA clase I y II en una población de la ciudad de Bogotá d.c..<http://www.monografias.com/trabajos12/arthla/arthla.shtml>
- Lucero P. Dinámica demográfica y configuración territorial de Mar del Plata y el Partido de General Pueyrredón en la segunda mitad del siglo XX. Universidad Nacional de Mar del Plata. http://www.redadultosmayores.com.ar/buscador/files/ARGEN036_LUCERO.pdf