

ARTÍCULOS ORIGINALES

Bajo polimorfismo en el sistema de antígenos de leucocitos humanos en población mestiza colombiana

LUZ MABEL ÁVILA-PORTILLO, MSc^{1,2}, ALEJANDRA CARMONA, BLC³, LEIDY FRANCO, BLC¹, IGNACIO BRICEÑO, MD, PhD⁴, MARÍA CONSUELO CASAS, BLC¹, ALBERTO GÓMEZ, PhD^{1,4}

Resumen

Objetivo. Este trabajo tiene como objetivo describir la frecuencia de alelos y de haplotipos de antígenos HLA de clases I y II en población mestiza colombiana.

Metodología. Se estudiaron 197 individuos colombianos no emparentados y 157 individuos emparentados que conformaban 53 familias, provenientes de diferentes regiones del país, remitidos para estudios de HLA de clases I y II por el método PCR-SSP a los laboratorios de inmunología del Hospital Militar Central de Bogotá y al Instituto de Referencia Andino.

Resultados. El haplotipo HLA-A*24 B*35 DR*04 fue el más frecuente en la población estudiada, lo cual concuerda con otros estudios de mestizos colombianos.

Conclusiones. El desequilibrio de Hardy-Weinberg hallado en la población analizada en el presente estudio, debe alertar sobre una eventual reducción en el repertorio de respuesta inmunitaria en los colombianos, lo cual podría ser el origen de una consecuente fragilidad de la población frente a nuevas infecciones que podrían convertirse en epidemias.

Palabras clave: Colombia, genética de población, antígenos HLA, complejo mayor de histocompatibilidad.

1 Instituto de Referencia Andino S.A., Bogotá, D.C., Colombia.

2 Servicio de Reumatología e Inmunología, Hospital Militar Central, Bogotá, D.C., Colombia.

3 Estudiante, Universidad Católica de Manizales, Manizales, Colombia.

4 Instituto de Genética Humana, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia.

Recibido: 14-05-2010

Revisado: 11-07-2010

Aceptado: 02-08-2010

Title

Low HLA polymorphism in Colombian mestizos

Abstract

Objective: This paper aims to describe the allele frequency and haplotype of HLA class I and II molecules in a Colombian mestizo population.

Methodology: HLA class I and II molecules on 197 unrelated Colombian individuals and 157 unrelated individuals making up 53 families from different regions of the country were studied at the Immunology Laboratory at the Military Hospital Central of Bogotá and at the Instituto de Referencia Andino by the PCR-SSP method.

Results: The haplotype HLA-A * 24 B*35 DR*04 was the most common, which is consistent with other studies carried out in Colombian mestizos.

Conclusions: The Hardy-Weinberg disequilibrium found in the population analyzed in this study should alert on a possible reduction of the immune response repertoire in Colombia, which could be the origin of a consequent fragility of the population in face of new infections that could eventually become epidemic.

Key words: Colombia, genetics population, HLA antigens, major histocompatibility complex.

Introducción

El complejo mayor de histocompatibilidad se caracteriza por ser uno de los sistemas moleculares en el humano con mayor diversidad (gran polimorfismo). Este sistema es fundamental durante la presentación antigénica de las células presentadoras a los linfocitos T CD4 y CD8[1]. Se ha determinado que la frecuencia de los

antígenos de compatibilidad varía de una población a otra, y que el grado de polimorfismo de este sistema en cada población incide en la capacidad global de respuesta inmunitaria[2]. El sistema HLA también se ha utilizado para identificar migraciones[3] y definir mestizaje. Además, se ha comprobado un desequilibrio de ligamiento entre alelos de diferentes *loci* (HLA-A, B y C, o HLA-DR, DP y DQ), con la consecuencia de que dichos alelos se heredan juntos o en bloque. Este desequilibrio de ligamiento génico podría ser el resultado de la selección natural en razón a la función de las proteínas codificadas por estos genes[4] en la respuesta inmunitaria antimicrobiana.

La llegada de los españoles a nuestro país no sólo marcó la época de la conquista sino, además, la mezcla genética entre los nativos indígenas, los esclavos africanos y los conquistadores españoles. Desde esa época hablamos de población mestiza, convirtiéndose éste en el grupo étnico más numeroso de Colombia: el 84% del total de la población colombiana[5]. De esta manera, se entiende la importancia de estudiar este grupo de genes, y conocer la estructura y la frecuencia genética que caracteriza actualmente a la mayoría de la población colombiana, lo cual puede contribuir, desde el punto de vista clínico, a programas de trasplante y a estudios de asocia-

ción del HLA con algunas enfermedades presentes en nuestro país.

El presente trabajo es de tipo descriptivo y tuvo como objetivo definir la frecuencia de alelos y haplotipos de los antígenos HLA de clases I y II en la población mestiza colombiana.

Varias investigaciones han buscado esclarecer las diferencias y similitudes genéticas existentes entre las diferentes poblaciones mundiales. Middleton, Williams *et al.* establecieron las frecuencias de alelos para el HLA-A en poblaciones geográficamente dispersas como Brasil, Colombia, Cuba, México, Omán, Singapur, China y Sudáfrica, y encontraron en la población colombiana kogui y en la mexicana seris la menor diversidad de alelos para el *locus* A[6].

Por otra parte, en 1997, Blagitko Nedezda *et al.* estudiaron poblaciones amerindias de Chile, Ecuador y Colombia, caracterizaron los genotipos del HLA-DRB1 y hallaron una gran frecuencia de los alelos HLA-DRB1*0407 y HLA-DRB1*1402 en 38% y 22% de estas poblaciones, respectivamente. En los 17 alelos caracterizados, encontraron que no había diferencias significativas entre las tres poblaciones[7].

En Colombia se han ampliado los estudios moleculares para caracterizar esta población, como es el caso de

Yunis *et al.*, quienes analizaron tres poblaciones amerindias del sureste colombiano –guambiano, paez e íngano–, utilizando el HLA y el grupo sanguíneo con el fin de establecer su relación genética, y demostraron que había mezcla entre indígenas paez y poblaciones de raza blanca (22,4%), mientras que los inganos y los guambianos mostraban mezcla con poblaciones negras (9,2% y 4,6%, respectivamente)[8].

Ossa *et al.* también determinaron frecuencias de alelos para el HLA-A, HLA-B y HLA-DRB1 de receptores y donantes para trasplante renal y médula ósea, todos pertenecientes a la base de datos de la red colombiana de trasplantes, y hallaron que 54% de los colombianos estudiados portaban alelos HLA-A*02 y HLA-A*24; para el *locus* HLA-B*, los alelos B*35 y B*51 fueron los que mostraron mayor frecuencia y, entre los alelos de clase II, el HLA-DRB1*04 y el HLA-DRB1*13 fueron predominantes[9].

El Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética de la Universidad de Antioquia analizó las frecuencias de alelos, genotípicas y de haplotipos de los *loci* HLA-A, HLA-B y HLA-DRB, y encontraron que los alelos A*02, A*24, B*35 y DRB1*04 eran los más frecuentes en esta población. Los haplotipos más frecuentes fueron HLA-A*24, B*35 (7,7%), HLA-

B*35, DRB1*04 (6,4%) y HLA-A*24, DRB1*04 (8,9%) para dos *loci* y, para tres *loci*, fueron HLA-A*24, B*35, DRB1*04 (4,6%) y HLA-A*24, B*61, DRB1*04 (2,0%)[10].

El HLA ha sido, a su vez, relacionado con enfermedades autoinmunitarias e infecciosas; las más importantes son: dengue[11], artritis[12, 13], lupus eritematoso sistémico[14], HTLV-II[15] y tuberculosis[16], entre otras, debido a la predisposición y asociación funcional de algunos alelos con la mayor o menor respuesta autoinmunitaria o antiinfecciosa.

Materiales y métodos

Se estudiaron 197 individuos colombianos no emparentados y 157 individuos emparentados que conformaban 53 familias, provenientes del altiplano cundiboyacense, la región Atlántica, la región Pacífica, el eje cafetero y Tolima, remitidos para estudios de compatibilidad en programas de trasplante renal y de médula ósea.

Los alelos del HLA se obtuvieron a partir de las tipificaciones HLA de clases I y II por el método PCR-SSP (*Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific Primers*), entre enero y noviembre de 2009, procesadas en el Laboratorio de Inmunología del Hospital Militar Central de Bogotá, y de las bases de datos provenientes del

Instituto de Referencia Andino y del Hospital Militar Central.

Brevemente, para la técnica de HLA-ABDR, se realizó la extracción del ADN de cada paciente a partir de sangre anticoagulada con EDTA; la amplificación se hizo utilizando el estuche comercial *Biotest HLA-ABDR SSP®* para la técnica de PCR-SSP; para la visualización de las bandas, se preparó gel agarosa al 2%, usando 4 µl de bromuro de etidio. Posteriormente, el gel se reveló en un transiluminador de luz ultravioleta para ser interpretado.

Los resultados se clasificaron según el parentesco o su ausencia; en los individuos emparentados, se elaboraron los árboles genealógicos y se identificaron los haplotipos en cada individuo.

Para el análisis estadístico, se utilizaron los programas *Genepop* (<http://genepop.curtin.edu.au/>) y Arlequín 3.0, para determinar: a) equilibrio de Hardy-Weinberg, b) frecuencias de los alelos para HLA clases I y II, y c) frecuencias de los haplotipos para HLA A* B* DR*.

Resultados

Frecuencias de alelos

Se analizaron 197 individuos no emparentados, provenientes del alti-

plano cundiboyacense, Tolima, el eje cafetero y la Costa Atlántica, con el fin de participar en programas de trasplante renal y de médula ósea, cuyo genotipo HLA fue analizado en el Hospital Militar Central y en el Instituto de Referencia Andino; 58,4% de la población estaba conformada por hombres y 41,6% por mujeres.

En la base de datos se escogieron los pacientes con la tipificación completa para el HLA de clases I y II.

En los 197 individuos analizados, se hallaron 28 alelos para el *locus* HLA-A*, 43 alelos para el *locus* HLA-B*, y 17 alelos para el HLA-DR*.

Para el *locus* HLA-A*, se encontró que los alelos más frecuentes eran A*02 y A*24 (0,1577%), seguidos del A*1 con una frecuencia de 0,0991%; A*25 y A*33 tenían una frecuencia de 0,0586%; A*29 tuvo una frecuencia similar a A*26 y a A*31 (0,0495% y 0,0450%, respectivamente); los alelos restantes reportan frecuencias menores de 0,0405% (tabla 1a).

Al analizar los resultados del *locus* HLA-B*, la frecuencia del alelo B*35 fue la más alta (0,1815%), seguida de B*40 y B*7 0,0704% y 0,0667%, respectivamente; los alelos B*38 y B*51 exhibieron una misma frecuencia

(0,0593%) y los alelos restantes tuvieron una frecuencia menor de 0,0556% (tabla 1b).

Del *locus* HLA-DR*, DR*04 tuvo la mayor frecuencia (0,1720%), seguido por DR*01 (0,1200%); DR*15 tuvo una frecuencia de 0,1000%, DR*13 de 0,0960%, y DR*7, DR*8, DR*11 con la misma frecuencia, 0,0840%; el resto de alelos tuvieron frecuencias menores de 0,0520% (tabla 1c).

En el grupo control se pudo observar una variación en la frecuencia alélica, debido al bajo número de individuos analizados. Sin embargo, la frecuencia de los alelos sigue siendo significativa. HLA-A*02 tuvo la mayor frecuencia en este *locus* (0,1875%); en el *locus* HLA-B*, B*35 tuvo una frecuencia de 0,1250% y en el *locus* HLA-DR*, para DR*04 se reportó una frecuencia de 0,1500% (tablas 1a, 1b y 1c).

Frecuencia de haplotipos

Se analizaron 157 individuos emparentados que conformaban 53 familias seleccionadas de los pacientes remitidos para estudio donante-receptor en programas de trasplante renal y de médula ósea, a partir de las bases de datos del Hospital Militar Central y del Instituto de Referencia Andino.

Tablas 1a, b y c. Frecuencias de alelos HLA-A* B* DR* en población mestiza y grupo control

Alelos	Frecuencias		
	HLA-A*	Mestizos	Controles
1		0,0991	0,0625
2		0,1577	0,1875
3		0,0405	
9		0,0045	0,0312
10		0,0135	0,0312
11		0,0360	0,0312
13		0,0045	
19		0,0180	0,1250
23		0,0360	
24		0,1577	0,0625
25		0,0586	
26		0,0450	
27		0,0045	
28		0,0135	
29		0,0495	0,1562
30		0,0180	0,0625
31		0,0450	0,1250
32		0,0360	
33		0,0586	0,0312
34		0,0090	
36		0,0045	
42		0,0045	
43		0,0135	
66		0,0045	
68		0,0270	0,0938
69		0,0045	

74		0,0180
80		0,0180
Tabla 1a		
HLA-B*	Mestizos	Controles
2	0,0037	
5	0,0037	
7	0,0667	
8	0,0481	0,0625
13	0,0222	0,0625
14	0,0407	0,0625
15	0,0296	0,0625
16	0,0037	
17	0,0074	
18	0,0296	
26	0,0037	
27	0,0333	0,1250
31	0,0037	
35	0,1815	0,1250
38	0,0593	0,0625
39	0,0148	0,1250
40	0,0704	
41	0,0074	
42	0,0074	
44	0,0556	0,1250
45	0,0074	
46	0,0037	
47	20,0037	0,0625
49	0,0222	

50	0,0222	
51	0,0593	0,1250
52	0,0444	
53	0,0074	
55	0,0074	
56	0,0111	
57	0,0037	
58	0,0296	
60	0,0074	
61	0,0111	
62	0,0037	
63	0,0037	
64	0,0185	
65	0,0074	
68	0,0037	
70	0,0074	
73	0,0037	
75	0,0074	
78	0,0111	
Tabla 1b		

El número de haplotipos obtenidos fue de 89 y se encontraron sólo 20 haplotipos con frecuencias significativas, entre los cuales el más común fue A*24 B*35 DR*04 con una frecuencia de 0,156250%, seguido del A*25 B*35, con 0,125000% y A*36

HLA* DR	Mestizos	Controles
1	0,1200	0,1500
2	0,0040	
3	0,0280	
4	0,1720	0,1500
6	0,0120	
7	0,0840	0,1000
8	0,0840	0,0500
9	0,0240	0,0500
10	0,0160	0,0500
11	0,0840	0,0500
12	0,0200	
13	0,0960	0,1000
14	0,0520	0,1000
15	0,1000	0,1500
16	0,0320	0,0500
17	0,0440	
18	0,0440	
Tabla 1c		

B*56 DR*11 con 0,093750%; A*02 B*40 DR*13, A*03 B*40 DR*13 y A*29 B*13 DR*07 se encontraron con una frecuencia de 0,062500%, y el resto de los haplotipos se reportaron con una frecuencia menor o igual a 0,031250% (tabla 2).

Tabla 2. Frecuencias de haplotipos HLA A* B* DR*

Frecuencia de haplotipos	
Haplotipo	Frecuencia
HLA*A*B*DR	
00 18 09	0,031250
01 07 13	0,031250
01 78 04	0,031250
02 16 04	0,031250
02 39 13	0,031250
02 40 08	0,031250
02 40 13	0,062500
03 07 13	0,031250
03 40 13	0,062500
10 15 14	0,031250
23 08 07	0,031250
24 35 04	0,156250
25 35 00	0,125000
29 13 07	0,062500
29 13 17	0,031250
29 44 07	0,031250
29 44 17	0,031250
29 50 07	0,031250
31 00 13	0,031250
36 53 11	0,093750

Equilibrio de Hardy-Weinberg

En el equilibrio de Hardy-Weinberg se observó una deficiencia de homocigotos para los tres *loci* (tabla 3), lo cual corresponde a un gran desequilibrio de ligamiento.

Tabla 3. Equilibrio de Hardy-Weinberg

Locus	Homocigotos observados	Homocigotos esperados	P
HLA-A	0	8,5566	0,6836
HLA-B	0	8,342	0,1235
HLA-DR	0	11,0884	0,0262

Discusión

En este estudio se reporta que los alelos más frecuentes en la población mestiza colombiana para HLA-A* fueron A*2 y A*24, con una frecuencia de 0,1577%. Estos datos concuerdan con lo reportado por Ossa *et al.* y por Rodríguez *et al.* en poblaciones específicas colombianas. Por otro lado, en un estudio realizado por Briceño *et al.* en cinco grupos amerindios de Colombia pertenecientes a dos familias lingüísticas diferentes (cubeo, tucano, coreguaje, embera y noanama), se reportó un aumento de la frecuencia del HLA-A*02 y A*24 en todos ellos; igualmente, el HLA-A*2 es uno de los más reportados en la población mundial[6-11]; sin embargo, los alelos A*3, A*23, A*30, A*68 y A*1, reportados por Rodríguez *et al.* Como los siguientes más frecuentes, no con-

cuerdan con los hallados en este trabajo, lo cual deja en claro la diversidad geográfica de la población que se estudió.

En este estudio, la frecuencia del HLA- B*35 concordó con los estudios reportados en diferentes grupos colombianos, lo que valida que este es el alelo más frecuente del *locus* B en la población colombiana[9, 10], aunque los alelos B*07 y B*38 no se han reportado con altas frecuencias en estudios anteriores.

En el HLA-DR*, la frecuencia más alta hallada en el presente estudio fue la reportada para el DR*04 (0,1720%), lo que valida una vez más lo reportado por Ossa *et al.* y por Rodríguez *et al.* Sin embargo, en estos estudios se encontró al DR*13 como el segundo alelo en exhibir mayor frecuencia y, en contraste, en nuestro estudio se encontró el DR*01 como el alelo inmediatamente siguiente al de mayor frecuencia, lo cual refleja la diferencia de las poblaciones que se estudiaron.

En cuanto a las frecuencias del grupo control, probablemente varían en razón al aumento de la muestra analizada. Por otra parte, es claro que entre la población mestiza y el grupo control existe un sesgo que probablemente afecta la frecuencia de alelos, como lo es el de la selección de pacientes

con enfermedades autoinmunitarias o hematológicas.

Aunque el haplotipo más frecuente en el presente trabajo fue el A*24 B*35 DR*04 (0,156250%), similar a lo reportado por Rodríguez *et al.*, este hallazgo se convierte en el punto de partida para determinar los subgrupos de estos tres alelos, ya que el complejo mayor de histocompatibilidad es el sistema más polimórfico del humano, y se debe tener en cuenta que en otros estudios realizados por Vargas *et al.* y Frison *et al.* Se identificaron nuevos alelos en sus respectivas poblaciones, una familia mexicana de origen nahua azteca y en dos individuos caucásicos, respectivamente[17, 18], situación que podría reproducirse en la población colombiana.

El desequilibrio de Hardy-Weinberg revelado por la deficiencia de homocigotos, puede ser resultado de la normal escasez de heterocigotos (en equilibrio de Hardy-Weinberg). Es una de las características que se esperaba encontrar en la población incluida en el presente estudio, por la gran extensión geográfica que se abarcó y por la gran variabilidad que puede existir de una región a otra, o bien entre poblaciones, aun pertenecientes al mismo país. Sin embargo, la alta frecuencia de un grupo reducido de haplotipos extendidos sugiere que la causa de la escasez de homocigotos podría deber-

se, más que una gran diversidad de la población, a una presión selectiva que favorece la presencia de heterocigotos, en la medida en que el recurso de un mayor número de alelos del HLA representa una ventaja selectiva para la población que debe enfrentar una gran cantidad de agentes microbianos.

En conclusión, los alelos y el haplotipo de mayores frecuencias reportados en este estudio concuerdan con los de otros estudios de mestizos en población colombiana.

Los estudios en mestizos colombianos concuerdan en que el haplotipo HLA-A*24 B*35 DR*04 es el más frecuente en mestizos colombianos. Sin embargo, dado el gran polimorfismo de estos alelos, se deben utilizar técnicas de alta resolución que identifiquen el alelo específico en cada *locus* y confirmen estos resultados.

Si bien las poblaciones analizadas en el Hospital Militar Central y en el Instituto de Referencia Andino pueden diferir del grupo control desde el punto de vista de los alelos HLA, las divergencias encontradas en el presente estudio podrían estar relacionadas con las alteraciones autoinmunitarias o tumorales que presentan estas familias. Sin embargo, el bajo polimorfismo detectado también podría ser originado por un cuello de botella microevolutivo o, alternativamente, por un efecto fundador que no se puede des-

cartar en la población colombiana, si se tiene en cuenta que el mestizaje se dio a partir del siglo XVI con la llegada de unos pocos individuos europeos que típicamente tuvieron descendencia con apenas una porción de las comunidades indígenas que lograron ser, en los términos de la Conquista, pacificadas.

La alta concentración de unos pocos haplotipos extendidos en la población analizada en el presente estudio debe alertar sobre una eventual reducción en el repertorio de respuesta inmunitaria en los colombianos, lo cual podría ser el origen de una consecuente fragilidad de la población frente a nuevas infecciones, que podrían convertirse eventualmente en epidemias.

Bibliografía

1. Abbas AK, Lichtman AH y Pober JS. *Inmunología celular y molecular*. 4a. edición. Madrid, España: McGraw-Hill Interamericana. 2002;69.
2. Van Oosterhout C. Trans-species polymorphism, HLA-disease associations and the evolution of the MHC. *Commun Integr Biol*. 2009;2:408-10.
3. Gorodezky C. *Genetic difference between Europeans and Indians: tissues and blood types*. Columbus and the New World: Medical implications. Providence (USA): Oceans Publications. 1995.
4. Rose N, Conway de Macario E, Fahey J, Friedman H, Penn GM. Quantitative

- aspects of HLA. *Manual of clinical laboratory immunology*. 4a. edición. Washington, D.C.: American Society for Microbiology. 1993.
5. DANE. Censo general 2005. Información básica, Colombia. Fecha de consulta: 11 de diciembre de 2009. Disponible en: <http://190.25.231.242/cgi-bin/RpWebEngine.exe/PortalAction?&MODE=MAIN&BASE=CG2005BASICO&MAIN=WebServerMain.inl>.
 6. Middleton D, Williams F, Meenagh A, Daar A. S, Gorodezky C, Hammond M, *et al.* Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents. *Hum Immunol.* 2000;61: 1048-52.
 7. Blagitko N, O'hUigin C, Figueroa F, Horai S, Sonoda S, Tajima K, *et al.* Polymorphism of the HLA_DRB1 locus in Colombian, Ecuadorian, and Chilean Amerindians. *Hum Immunol.* 1997;54:74-81.
 8. Yunis JJ, Yunis EJ, Yunis E. Genetic relationship of the Guambiano, Paez, and Ingano Amerindians of Southwest Colombia using major histocompatibility complex class II haplotypes and blood groups. *Hum Immunol.* 2001; 62:970-8.
 9. Ossa H, Manrique A, Quintanilla S, Peña A. Polimorfismos del sistema HLA (*loci* A*, B* y DRB1*) en población colombiana. *Revista Nova.* 2007;5: 25-30.
 10. Rodríguez LM, Giraldo MC, García N, Velásquez L, París SC, Álvarez CM, García LF, *et al.* Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 en donantes fallecidos, Medellín, Colombia. *Biomédica.* 2007;27:537-47.
 11. Falcón JA, Ramos C, Zúñiga J, Juárez-Palma L, Rangel-Flores A, García-Trejo AR, *et al.* HLA class I and II polymorphisms in Mexican Mestizo patients with dengue fever. *Acta Trop.* 2009; 112:193-7.
 12. Garavito G, Yunis EJ, Egea E, Ramirez L, Malagón C, Iglesias A, *et al.* HLA-DRB1 alleles and HLA-DRB1 shared epitopes are markers for juvenile rheumatoid arthritis subgroups in Colombian mestizos. *Hum Immunol.* 2004;65:359-65.
 13. Salazar M, Varela A, Ramírez L. A, Uribe O, Vásquez G, Egea E, *et al.* Association of HLA-DRB1*1602 and DRB1*1001 with Takayasu arteritis in Colombian mestizos as markers of Amerindian ancestry. *Int J Cardiol.* 2000;75:S113-6.
 14. Castaño N, Díaz L. M, Pineda R, Rojas A, Anaya JM. Meta-analysis of HLA-DRB1 and HLA-DQB1 polymorphisms in Latin American patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev.* 2008;7:322-30.
 15. Egea E. Polimorfismo genético del MHC y su asociación con la infección HTLV-II. Una herramienta de epidemiología molecular en el análisis de subpoblaciones del Caribe colombiano. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.* 2002;26:181-96.
 16. Yuliwulandari R, Sachrowardi Q, Nakajima H, Kashiwase K, Hirayasu K, Mabuchi A, *et al.* Association of HLA-A, -B, and -DRB1 with pulmonary tuberculosis in western Javanese Indonesia. *Hum Immunol.* 2010;71: 697-701.

17. Vargas G, Martínez J, Granados J, Díaz N, Álvarez M, Gómez E, *et al.* Description of a novel HLA-B35 (B*3514) allele found in a Mexican family of Nahua Aztec descent. *Hum Immunol.* 1996;45:148-51.
18. Frison S, Crivello P, Longhi E, Andreini E, Tivelli M, Serafini M, *et al.* Description and molecular modeling of two novel HLA alleles: HLA-A*0343 and A*0345. *Hum Immunol.* 2010;71: 582-5.