

## ARTÍCULO ORIGINAL

# Caracterización del HLA en una familia colombiana endogámica con síndrome de Usher

## HLA detection in a colombian endogamic family with Usher Syndrome

Giraldo A,<sup>a</sup> Arias A,<sup>a</sup> Torres C,<sup>a</sup> Piñeros MT,<sup>b</sup> Jaimes N,<sup>c</sup> Cano E,<sup>d</sup> Bustos MF,<sup>a</sup> Romero P,<sup>a</sup> Villarraga N,<sup>a</sup> Celis LG<sup>a,\*</sup>

Recibido: 18 de septiembre de 2018

Aceptado: 25 de febrero de 2019

### PALABRAS CLAVE:

Usher; HLA;  
Consanguinidad;  
Endogamia; Retinitis  
pigmentosa;  
Hipoacusia.

### RESUMEN

El síndrome de Usher es una enfermedad autosómica recesiva que se caracteriza por presentar retinitis pigmentosa, hipoacusia neurosensorial congénita y disfunción vestibular. El propósito de este trabajo es realizar la caracterización de HLA en una familia colombiana endogámica que presenta síndrome de Usher.

La metodología consiste en que con un previo consentimiento informado se realizó una genealogía de la familia y a cuatro pacientes confirmados clínicamente con síndrome de Usher y a cuatro fenotípicamente sanos se les tomó 5 ml de sangre periférica en tubos de venopunción con EDTA para luego realizar el aislamiento del DNA por la técnica de *salting out*, conservados en buffer TE a -8 °C y ajustada la muestra a una concentración de 8 µg/ml. Posteriormente a través de la técnica de PCR-SSP de mediana resolución se caracterizaron los antígenos de HLA \*A, \*B, \*DRB1 y \*DQB1.

Los resultados obtenidos indican que la familia oriunda del Departamento del Huila presenta una marcada endogamia detectándose que todos los hermanos afectados, sus padres son hermanos también y una de las parejas a su vez tuvo una niña afectada, por lo que sus abuelos y padres son hermanos. En lo referente al HLA, los alelos más frecuentemente encontrados fueron A30 B42 DR1 DQ5 y A3 B45 DR12 y DQ7, que no están asociados a la enfermedad. Estos resultados sugieren que dada la endogamia que muestra esta familia se presenta una gran acumulación de polimorfismos y mutaciones, por lo que es necesario realizar un proceso de asesoría genética para disminuir el riesgo de recurrencia.

### ABSTRACT

Usher syndrome is an autosomal recessive disease characterized by retinitis pigmentosa, congenital sensorineural hearing loss and vestibular dysfunction. The purpose of this work was to characterize HLA in an inbred Colombian family that presents Usher Syndrome.

The Methodology consisted in that a genealogy of the family was made and previous informed consent, from four patients clinically confirmed with Usher Syndrome and four phenotypically healthy patients 5 ml of peripheral blood were taken in venipuncture tubes with EDTA and then the DNA isolation was performed with the technique of *salting out*, preserved in TE buffer at -8 °C and adjusted the sample to a concentration of 8 µg/ml. The HLA \*A, \*B, \*DRB1 and \*DQB1 antigens were then characterized by the medium-resolution PCR-SSP technique.

<sup>a</sup> Universidad de La Sabana, Colombia.

<sup>b</sup> Hospital Departamental San Vicente de Paúl, Colombia.

<sup>c</sup> Universidad del Bosque, Colombia.

<sup>d</sup> Universidad de Cartagena, Colombia.

\* Autor para correspondencia: luis.celis@unisabana.edu.co

---

**KEY WORDS:**

Usher; HLA;  
Consanguinity;  
Inbreeding, Retinitis  
pigmentosa;  
Hearing loss.

The results obtained indicate that the family of the Department of Huila has a marked inbreeding, detecting that the parents of all the affected brothers and sisters are also siblings and one of the couples had a girl affected because her grandparents and parents are siblings, with regard to HLA, the alleles most frequently found were A30 B42 DR1 DQ5 and A3 B45 DR12 and DQ7, which are not associated with the disease. These results suggest that due to the inbreeding presented by this family there is a large accumulation of polymorphisms and mutations, which is why it is necessary to carry out a genetic counseling process to reduce the risk of recurrence.

---

**INTRODUCCIÓN**

Desde el punto de vista epidemiológico se estima que más de 690 millones de personas alrededor del mundo tienen lazos de consanguinidad, esto se da principalmente como medio para preservar la estructura familiar y adquirir diversos beneficios como económicos, sociales, culturales, entre otros.<sup>1</sup> Colombia no es ajena a este acontecimiento, ya que existe evidencia desde la era precolombina en el reconocimiento de síndromes genéticos, principalmente autosómicos recesivos, los cuales fueron documentados a través de figuras en arcilla. A nivel de Suramérica, Colombia es el tercer país en mostrar mayor presencia de consanguinidad dada principalmente entre primos hermanos en regiones como la costa norte y la isla de

providencia, aunque el número de estudios genéticos es limitado.<sup>2</sup>

La variabilidad genética se define como la tendencia de los genotipos de una población a diferenciarse, los genomas humanos muestran una variación segmentaria del número de copias. Las deleciones y duplicaciones raras y de novo, que a menudo son grandes, son factores de riesgo conocidos en muchas enfermedades humanas. Además, miles de deleciones y duplicaciones más pequeñas se segregan en la población humana, muchas de las cuales contribuyen potencialmente a fenotipos complejos.<sup>3</sup> Los estudios de variabilidad genética como medio de identificación humana inició con el análisis de los grupos sanguíneos, continuando con proteínas séricas leucocitarias y eritrocitarias para después abrirle campo al sistema

de Antígenos Leucocitarios Humanos (HLA, por sus siglas en inglés de *Human Leukocyte Antigen*).

El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) humano se divide en tres regiones del cromosoma 6p21.3: clase II (centroamérica), clase III y clase I (telomérica). El CMH codifica proteínas altamente polimórficas, muchas de las cuales están asociadas con el sistema inmune. Los productos de los genes de clase I polimórficos clásicos son el antígeno leucocitario humano-A (HLA-A), HLA-B y HLA-C.<sup>4</sup> Los estudios del sistema HLA y la determinación de sus correspondientes antígenos realizados en África, Asia, Europa y América han tenido diversas aplicaciones y se consideran herramientas fundamentales en estudios de evolución, diversidad humana, asociación a enfermedades y genética de poblaciones. Estos estudios también han mejorado el conocimiento de las frecuencias haplotípicas, útiles en el diseño de programas de trasplante de órganos, para la selección adecuada de la pareja donador-receptor.<sup>5</sup>

En los últimos años se ha dilucidado la función del sistema HLA como lo son el de reconocimiento antigénico y regulador del sistema inmunológico en seres humanos como parte del complejo mayor de histocompatibilidad. El sistema de antígenos leucocitarios humanos (HLA) del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) contiene una numerosa familia de genes localizados en el brazo corto del sexto cromosoma (6p21.1-6p21.3). Estos antígenos se expresan de manera autosómica y codominante, y se heredan de ambos padres, por lo que cada individuo expresa un antígeno de origen paterno y uno de origen materno para cada uno de los loci.<sup>6</sup> La relevancia de esto es debido a que presenta un elevado polimorfismo, lo que ha generado un interés científico en realizar la descripción antigénica y en evaluar la frecuencia de dicho polimorfismo en las poblaciones de interés. Las frecuencias génicas y haplotípicas generan información de gran relevancia acerca de la composición genética y el comportamiento de los genes en la población, esta información nos permite identificar enfermedades que tienen cierto grado de predisposición genética, especialmente las enfermedades de origen autoinmune, las cuales presentan una mayor relación con alteraciones en ciertos alelos HLA y el entendimiento de los mecanismos moleculares responsables del desarrollo de enfermedades.<sup>7</sup>

El objetivo de este trabajo consiste en la evaluación de variantes asociados a los marcadores de histocompatibilidad por medio de la caracterización de HLA en un grupo familiar altamente endogámico con síndrome de Usher en el departamento de Huila, Colombia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

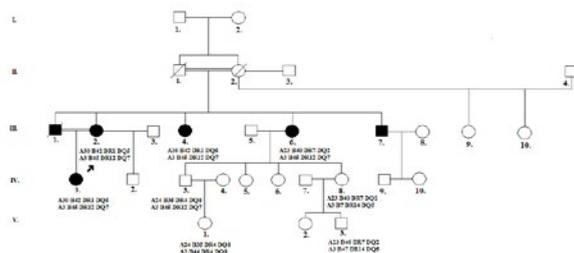
Se seleccionó una familia constituida por ocho integrantes del sur de Colombia, localizada en los municipios de la Plata y Garzón, Huila; de los cuales cuatro de estos acudieron a la consulta de Oftalmología por presentar disminución de la agudeza visual progresiva hasta llegar a ceguera asociada a sordera progresiva, y los otros cuatro asintomáticos asistieron a consulta como control por antecedentes familiares, se realizaron historias clínicas completas de cada paciente, seguido de un examen oftalmológico completo, además de audiometría. El patrón de presentación hizo sospechar una enfermedad de origen genético. Previo firma de consentimiento informado se les tomaron 5 ml de sangre periférica en tubos de venopunción con EDTA para luego realizar el aislamiento del DNA por la técnica de *salting out*, conservados en buffer TE a -8°C y ajustada la muestra a una concentración de 8 µg/ml. Posteriormente a través de la técnica de PCR-SSP de mediana resolución se caracterizaron los antígenos de HLA \*A, \*B, \*DRB1 y \*DQB1.

## RESULTADOS

### Árbol genealógico

La genealogía que se pudo identificar incluyó a cinco generaciones de una familia altamente endogámica con al menos dos uniones consanguíneas identificadas y seis personas afectadas, cuatro de las cuales fueron evaluadas por el grupo investigador (el caso índice III.2, sus hermanas, III.4, III.6 y su hija IV.1), que sugieren un patrón de herencia autosómico recesivo. Respecto al individuo III.1 cumplía con características clínicas del síndrome.

**Figura 1. Árbol genealógico donde se evidencia la doble consanguinidad y los familiares enfermos**



Fuente: Elaboración propia.

Durante el examen oftalmológico de los pacientes sintomáticos se evidenció a nivel de la retina retinosis pigmentaria bilateral, asociado con el resultado de au-

diometría, que mostraba sordera neurosensorial progresiva bilateral, por lo cual se consideró como primer diagnóstico síndrome de Usher sin tipificar, se tomó la decisión de realizar muestreo genético y análisis de HLA para definir tipo de enfermedad y posible riesgo de padecerla en pacientes sanos hasta el momento.

**Figura 2. Caracterización de antígenos HLA por técnica de PCR-SSP de mediana resolución**

PACIENTE	RESULTADO HLA	
	MATERNO	PATERNO
Sano	A3 B45 DR12 DQ7	A24 B35 DR4 DQ8
Sano	A3 B44 DR4 DQ8	A24 B35 DR4 DQ8
Sano	A3 B47 DR14 DQ5	A23 B40 DR7 DQ2
Enfermo	A3 B35 DR12 DQ7	A30 B42 DR1 DQ5
Enfermo	A3 B45 DR12 DQ7	A23 B40 DR7 DQ2
Enfermo	A3 B45 DR12 DQ7	A30 B42 DR1 DQ5
Enfermo	A3 B45 DR12 DQ7	A30 B42 DR1 DQ5
Sano	A3 B7 DR14 DQ5	A23 B40 DR7 DQ2

Fuente: Elaboración propia.

## DISCUSIÓN

La consanguinidad se entiende como la unión entre individuos que comparten al menos un ancestro común. Se estima que más de 690 millones de personas en el mundo tienen consanguinidad. Medio Oriente, el norte de África y el sur de Asia son regiones que cultural e históricamente tienen una alta tasa de uniones consanguíneas en muchos casos porque se preserva la estructura familiar y proporciona beneficios sociales, económicos y culturales. Teóricamente, los descendientes de padres relacionados son más a menudo homocigóticos por descendencia que los de padres no consanguíneos, estos apareamientos consanguíneos tienen un riesgo relativamente mayor de producir descendencia con daño genético, que se da por la expresión de genes recesivos heredados de antepasados comunes. Los matrimonios consanguíneos también se reconocen como asociados con un mayor riesgo de enfermedades autosómicas recesivas que

en la población general, ya que se favorece la expresión de alelos deletéreos recesivos.<sup>1</sup>

Según la literatura, Colombia es el tercer país en Suramérica después de Brasil y Venezuela en presentar consanguinidad principalmente entre primos hermanos. Los departamentos con mayor índice de afectación son Santander, Boyacá, Antioquia y Huila, por limitaciones socioeconómicas y de movilidad. La región de los Andes se caracteriza por una contribución europea predominante, sin embargo, el sureste (Huila) ha conservado una marcada ascendencia indígena.<sup>16</sup> Hay evidencia de la era precolombina sobre el reconocimiento de ciertos desórdenes de la cultura Tumaco-La Tolita, un grupo de amerindios asentados en lo que hoy es la costa de Colombia y Ecuador con una colección de figurillas de arcilla son síndromes genéticos prevalentes en la población en ese momento, como: Morquio, síndrome de Down y Treacher-Collins. Colombia muestra un patrón característico de prevalencia de ciertos trastornos, como múltiples enfermedades de herencia autosómica recesiva, según la distribución étnica de parte de su población, dada la alta prevalencia de consanguinidad secundario al aislamiento geográfico en ciertas regiones rurales del país.<sup>8,9,10</sup>

## Composición del CMH

El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) se refiere a una región genética que contiene cientos de genes, incluidos los genes del antígeno leucocitario humano. Por lo tanto, la región CMH humana también se denomina región HLA, que se encuentra en el brazo corto del cromosoma seis en la posición 6p21.3 (figura 1). El CMH clásico abarca 3.6 megabases (Mb) e incluye 224 loci genéticos identificados, de los cuales se predice que 128 se expresarán. Aproximadamente, el 40% de los genes expresados se estima que tienen una función del sistema inmune. Los genes HLA expresan sus productos génicos en la superficie de los glóbulos blancos y contienen los genes que codifican antígenos tisulares o tipos de tejidos.<sup>11</sup>

Los genes del CMH codifican proteínas esenciales para el reconocimiento inmunitario: las moléculas de clase I y II. En humanos, las moléculas de clase I más macroglobulina  $\beta$  2 (heterodímeros) incluyen HLA-A, HLA-B y HLA-C, y las moléculas de clase II (heterodímeros alfa-beta) incluyen HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP. Estas moléculas son los antígenos de trasplante clásicos. Otras moléculas codificadas dentro del CMH son las moléculas de clase III, estos incluyen los componentes del complemento ligados al CMH (C2, C4 y Bf), 21-hidroxilasa (CYP21), proteína de choque térmico (HSP) 70 y factor de necrosis tumoral (TNF).<sup>5,12</sup> Cada

subregión codifica como mínimo una glicoproteína de superficie celular, y contiene numerosos loci genéticos, incluidos genes expresados y pseudogenes. Algunos loci HLA son altamente polimórficos; por ejemplo, se conocen más de 4 300 alelos para HLA-B y más de 1 900 alelos para HLA-DRB1.<sup>12</sup> En la base de datos IMGT/HLA se evidencian 15.183 alelos deferentes para HLA. La alta diversidad encontrada en los loci HLA se localiza principalmente en el exón 2 (genes de clase I y II) y en el exón 3 (sólo genes de clase I).<sup>12</sup>

De hecho, los genes MHC son los loci más polimórficos conocidos en el hombre. Debido a que los genes del MHC especifican moléculas que juegan un papel importante en la respuesta inmune, se cree que el polimorfismo es esencial para la supervivencia de la especie y se mantendrá en la población por selección; la introducción de técnicas de tipado molecular en la década de 1980 permitió la determinación de la variabilidad de la región CMH.<sup>11,13,14</sup>

Los genes MHC están estrechamente vinculados, es decir, se segregan en bloque a la descendencia. El complejo de genes vinculados que reside en uno de los pares de cromosomas homólogos y que segrega en bloque a la descendencia se denomina haplotipo. Cada individuo hereda dos haplotipos de MHC, uno de cada padre, y tiene dos alelos para cada uno de los genes. Estos alelos se expresan co-dominantemente. La herencia de los genes MHC sigue las reglas de segregación establecidas por Mendel. Dentro de una familia, cada niño hereda un haplotipo MHC de la madre y uno del padre. Por convención, los haplotipos paternos se designan a y b, y los haplotipos maternos c y d. Por lo tanto, hay cuatro posibles genotipos MHC en la descendencia: ac, ad, bc y bd. Debido a que la posibilidad de heredar un haplotipo determinado es aleatoria, la probabilidad de ocurrencia de uno de los cuatro genotipos es de uno en cuatro para cada apareamiento. En una familia con cinco hijos, al menos dos de los niños serán idénticos a HLA.<sup>12,15,16</sup>

Respecto al síndrome de Usher afecta genes que participan en la formación de los haces del pelo auditivo y el anclaje a filamentos de actina, en otras palabras, los genes USH codifican proteínas motoras, de andamiaje, moléculas de adhesión y receptores transmembrana.<sup>17</sup>

## CONCLUSIONES

La aparición de enfermedades autosómicas recesivas se ve influenciada por limitaciones geográficas y socioeconómicas debido al aumento de uniones matrimoniales endogámicas, Colombia no está exenta, siendo el tercer país en Suramérica después de Bra-

sil y Venezuela en presentar consanguinidad, lo que favorece la expresión de alelos deletéreos recesivos.

Los genes del complejo mayor de histocompatibilidad contienen el antígeno leucocitario humano, estos se heredan de padre y madre de manera codominante, por lo que la posibilidad de heredar un haplotipo es aleatoria. A lo largo de la historia, el HLA se ha relacionado con la aparición de numerosas enfermedades principalmente autoinmunes. Sin embargo, se requieren más estudios para establecer relación clara entre HLA y síndrome de Usher.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

1. Ben-Halim N, Alaya-Bouaffif NB, Romdhane L, Ben-Atig RK, Chouchane I, Bouyacoub Y, Arfa I, Cherif W, Nouira S, Talmoudi F, Lasram K, Hsouna S, Ghazouani W, Azaiez H, El Matri L, Abid A, Tebib N, Ben Dridi MF, Kachboura S, Amouri A, Mokni M, Ben Arab S, Dellagi K, Abdelhak S. Consanguinity, endogamy and genetic disorders in Tunisia. *J Community Genet.* 2013 Ap.; 4(2): 273-284. Published online 2012 Dec. 4. doi: 10.1007/s12687-012-0128-7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3666836/#CR89>.
2. De Castro M, Restrepo CM. Genetics and Genomic Medicine in Colombia. *Mol Genet Genomic Med.* 2015 Mar; 3(2): 84-91.
3. Handsaker R, Van Doren V, Berman J, Genovese G, Kashin S, Boettger L, et al. Large multiallelic copy number variations in humans. *Nature Genetics.* 2015; 47(3):296-303.
4. OMIM Entry - \* 142800 - MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX, CLASS I, A; HLA-A. Omim.org. 2017 [cited 7 November 2017]. Available from: <https://www.omim.org/entry/142800?search=HLA&highlight=hla>
5. Hernández-Rodríguez AW, Trejo-Medinilla F de M. Estudio genético poblacional de frecuencias alélicas para 15 marcadores str presentes en la población del estado de zacatecas aplicado a la práctica forense. *Arch Med.* 2014; 10(1):1-24.
6. Arias Y, Castro M, Ríos M, López J, Echeverry S, Martínez O. Analysis of HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 allelic, genotypic, and haplotypic frequencies in colombian population. *Colombia médica.* 2010; 41(4). [Consultado el 15 de septiembre de 2018]. Disponible en <http://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/725/1186>.
7. Bermeo S, Guerra MT, Ostos H. Frecuencias de HLA-A, B y DRB1 en una población de Huila-Colombia. *Revista Facultad de Salud-RFS.* 2010; 2(1): 9-19.

8. Liascovich R, Rittler M, Castilla EE. Consanguinity in South America: demographic aspects. *Hum. Hered.* 2001; 51: 27-34.
9. Arnaiz-Villena A, Palacio-Gruber J, Muñiz E, Campos C, Alonso-Rubio J, Gomez-Casado E, et al. HLA genes in Chimila Amerindians (Colombia), the Peopling of America and Medical Implications. *Int. J. Mod. Anthropol.* 2016; 9: 91-116.
10. Arnaiz-Villena A, Areces C, Enriquez-de-Salamanca M, Abd-El-Fatah-Khalil S, Marco J, Muñiz E, et al. Pacific Islanders and Amerindian relatedness according to HLA autosomal genes. *Int. J. Mod. Anthropol.* 2014; 7: 44-67.
11. Human leukocyte antigens (HLA): A roadmap. Uptodate.com. 2017 [cited 8 November 2017]. Available from: [https://www.uptodate.com/contents/human-leukocyte-antigens-hla-a-roadmap?source=search\\_result&search=hla&selectedTitle=1~150](https://www.uptodate.com/contents/human-leukocyte-antigens-hla-a-roadmap?source=search_result&search=hla&selectedTitle=1~150).
12. Fagoaga OR, Histocompatibility M. Chapter 49-Human Leukocyte Antigen: The Major Histocompatibility Complex of Man. Twenty Third Edition. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. Elsevier Inc.; 2017: 955-972.e3. [cited ] Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-29568-0.00049-8>
13. Arnaiz-Villena A, Bayona B, Palacio-Gruber J, Hernández E, Muñiz E, Campos C, et al. HLA genes in Barranquilla (North Colombia): Searching for cryptic Amerindian genes. *Human Immunology.* 2018; 79(1): 3-4.
14. Arnaiz-Villena A, Reguera R, Parga-Lozano C, Abd-El-Fatah-Khalil S, Monleon L, Barbolla L, et al. HLA Genes in Afro-American Colombians (San Basilio de Palenque): The First Free Africans in America. *The Open Immunology Journal.* 2009; 2(1): 59-66.
15. Ossa H, Aquino J, Sierra S, Ramírez A, Carvalho E, Gusmão L. Analysis of admixture in Native American populations from Colombia. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series.* 2015; 5: e332-e334.
16. Ossa H, Aquino J, Pereira R, Ibarra A, Ossa R, Pérez L, et al. Outlining the Ancestry Landscape of Colombian Admixed Populations. *PLOS ONE.* 2016; 11(10): e0164414.
17. Bonnet C, Ei-Amraoui A. Usher syndrome (sensorineural deafness and retinitis pigmentosa): pathogenesis, molecular diagnosis and therapeutic approaches. 2012; (1) [Consultado el 15 de septiembre de 2018]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22185901>.