

ESTRUCTURA GENÉTICA DE TRES POBLACIONES MEXICANAS EN BASE AL SISTEMA HLA-A

Amador Flores-Aréchiga¹ Irene A. Gómez-Espinel^{1,2,3} Luz A. Castro-Cárdenas¹ Jared J. H. Treviño-Zúñiga¹ Beatriz Silva-Ramírez³ y Ricardo M. Cerda-Flores⁴

¹Departamento de Patología Clínica. Hospital Universitario. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Nuevo León (Monterrey, México). ²Unidad de Medicina Familiar # 15. Instituto Mexicano del Seguro Social, Monterrey, México. ³Departamento de Inmunogenética. Centro de Investigación Biomédica del Noreste, IMSS. Monterrey, México. ⁴Facultad de Enfermería y Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, UANL, Monterrey, México.

E-mail: igomez98@hotmail.com



Introducción

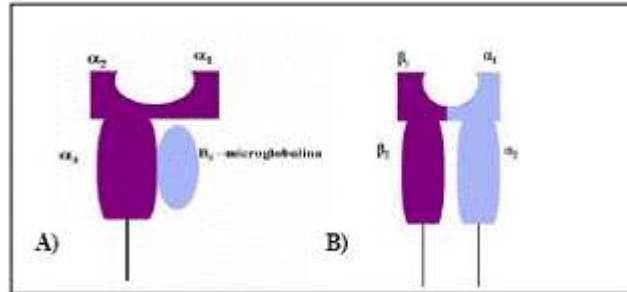
El *pool* génico de las poblaciones mestizas mexicanas deriva de tres fuentes principales: españoles, amerindios y africanos (1,2,3). Son pocos los estudios con grupos sanguíneos y proteínas séricas que apoyan la historia étnica de las poblaciones mestizas mexicanas (4-13). En México se han realizado diversos estudios de HLA que abarcan poblaciones indígenas y caucásicas del noroeste, centro y la población de Jalisco (14,15,16). Para los propósitos de este trabajo se definió como población noreste la comprendida por los estados de Nuevo León, Tamaulipas y Coahuila. El sistema más polimórfico en el

genoma humano es el Complejo Mayor de Histocompatibilidad, (MHC) (por sus siglas en inglés *Mayor Histocompatibility Complex*) también conocido como Antígeno Leucocitario Humano (HLA) (por sus siglas en inglés *Human Leukocyte Antigen*). Se han identificado hasta el momento 3,864 alelos con distribución mundial variada (17). Para la identificación de los haplotipos se utilizan diferentes métodos moleculares como el análisis de polimorfismo de fragmentos de restricción, Tipificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa secuencia específica, (PCR-SSP por sus siglas en inglés *Polimerase Chain Reaction-Sequence-Specific-Primer*), PCR-Múltiple y Tipificación basada en secuencia, entre otras. (18,19)

Generalidades del HLA. Las proteínas HLA suelen ser los blancos principales de reacciones inmunitarias, como es el caso de rechazo de tejidos, lo que evidencia que el HLA se comporta como un marcador inmunogénico. Estas propiedades del MHC son productos secundarios a la función de presentar péptidos antígenicos a las células T (20). Las moléculas de HLA se clasifican en tres clases I, II y III. A continuación se describe la estructura de las moléculas de clase I y II.

Estructura de las proteínas del HLA y sus sitios de unión al péptido. La mayor parte de los antígenos peptídicos se combinan en forma de complejo con las proteínas del HLA para ser presentados a los linfocitos T. Las moléculas clase I presentan los antígenos a las células T CD8+ (citotóxicas), la clase II presenta los antígenos a las células T CD4+ (cooperadoras). Cada una de ellas se expresan en la superficie celular como heterodímeros compuestos por dos cadenas de polipéptidos enlazadas de manera no covalente. La molécula de clase I consiste en una cadena alfa que se organiza en tres dominios: α_1 , α_2 y α_3 . El dominio α_3 se vincula con la microglobulina β_2 , polipéptido que estabiliza la molécula y facilita el transporte hacia la superficie de la célula (Ver Figura 1). En los dominios α_1 y α_2 radican las variaciones en la secuencia de aminoácidos que determinan la aloantigenicidad y el polimorfismo (21). Una molécula de clase II se forma por polipéptidos conocidos como α y β , tienen un tamaño similar y se anclan en la membrana de la superficie celular por su terminal carboxilo. Las regiones extracelulares de ambas cadenas se pliegan individualmente para formar dominios globulares designados como α_1 , α_2 , β_1 y β_2 respectivamente. La mayor variabilidad de esta molécula se encuentra entre α_1 y β_1 (Ver Figura 1) (22,23).

FIGURA 1. Moléculas de HLA clase I y II. A) Clase I con dominios α_1 , α_2 , α_3 y β_2 microglobulina unida a α_3 ; B) Clase II con sus cadenas α y β

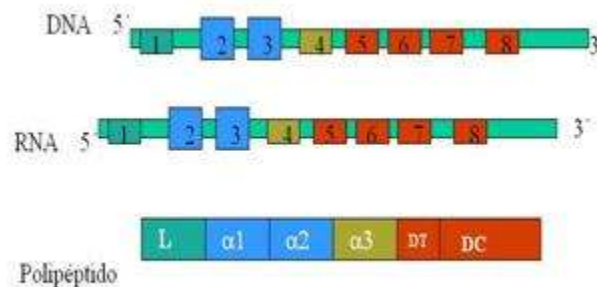


Cada molécula de HLA puede enlazar un péptido antigénico en los sitios de unión más alejados de la superficie celular y lo vuelve accesible para otras células. Este sitio coincide con los lugares de mayor variabilidad de las moléculas en donde se forma un surco que determina el tipo de polipéptido a enlazar y la aloantigenicidad de la molécula. La variabilidad se determina por los diferentes alelos del gen que codifica su estructura.

Estructura genética. Los genes que codifican las moléculas de HLA se hallan situados en el cromosoma 6p21.3 y abarca aproximadamente 4 Megabases (Mb). En esta región cromosómica se han identificado más de 224 genes y se sabe hasta ahora que más del 15 por ciento tienen funciones relacionadas con el sistema inmune. La clase I está formada por al menos 11 genes y la clase II por 23. Ambos tipos de loci incluyen un gran número de genes, pseudogenes y fragmentos génicos no codificantes que se dividen en clásicos y no clásicos. Los clásicos son los de mayor interés, los de la clase I incluyen HLA-A, B y C y los de la clase II HLA-DP, DQ y DR. Los genes que forman el sistema HLA son codominantes, por lo tanto, cada individuo expresa dos alelos por cada loci, uno procede del padre y el otro de la madre. Al final existen seis loci de clase I y seis de clase II en cada individuo. Al conjunto de alelos del sistema HLA que se halla en un mismo cromosoma se le denomina haplotipo. Existe un 25 por ciento de probabilidad que dos hermanos compartan los mismos haplotipos, 50 que compartan un haplotipo y 25 que no compartan ninguno (24,25). De los 3864 secuencias alélicas de las clases I, II y III, 1633 codifican para las moléculas clásicas de clase I y se distribuyen de la siguiente manera: HLA-A 506, HLA-B 851, HLA-C 276. A este tipo de diversidad se le conoce como polimorfismo alélico y el HLA es el sistema más polimórfico conocido (26). Casi todos los polimorfismos entre los alelos del HLA incluyen residuos de aminoácidos situados en el surco de enlace de péptidos y alrededor de este. Como resultado, cada variedad alélica tiene sus propias características de enlace de péptido. Si bien muchas variedades alélicas son comunes entre la población, es probable que una persona herede dos alelos distintos de muchos de los sitios del HLA. Esto es ventajoso para el individuo debido a que aumenta la variedad de péptidos antigénicos distintos que pueden presentarse a las células T (27). Si bien existen tres tipos fundamentales de grupos génicos, este estudio se enfoca a la clase I, específicamente HLA-A.

Gen clase I HLA-A. El gen clase I HLA-A codifica para la cadena α y se distribuye en 8 exones. El primer exón codifica la secuencia líder encargada del transporte polipeptídico hacia el retículo endoplásmico, este, junto con los últimos 4 exones, codifican para los dominios transmembranal y citoplasmático y contienen las secuencias que hacen la distinción entre los diferentes genes de esta región (Ver Figura 2). Los exones 2 y 3 codifican para los dominios α_1 y α_2 de la molécula, son los de mayor variabilidad en el gen y los que determinan el tipo de alelo que posee el individuo. El exón 4 codifica para el dominio α_3 , que es el que interacciona con la microglobulina β_2 , cuyo gen codificante no se halla en el cromosoma 6 sino en el 15 (28).

FIGURA 2. Estructura general del gen de HLA-A. Los exones 2 y 3 constituyen el segmento de mayor variabilidad. L, secuencia líder; DT, dominio transmembranal; DC, dominio citoplasmático.



Nomenclatura del sistema HLA basada en la secuencia de nucleótidos. La estandarización de la nomenclatura de los genes del HLA y alelos se realizó en 1984 por el comité de Nomenclatura de la Organización Mundial de la Salud. Los primeros antígenos nombrados fueron determinados serológicamente y se identificaron con el prefijo HLA, seguido del nombre del locus al que pertenecen y el número asignado por el Comité de Nomenclatura (ej. HLA-A2). Posteriormente con el avance de la tecnología molecular, el nivel de identificación aumentó en complejidad. Inicialmente, los alelos determinados a nivel molecular también se identificaron con el prefijo HLA seguidos del locus del cual derivan, un asterisco -como separador entre el nombre del *locus* y la designación del alelo e indicativo de su determinación por métodos moleculares- y un número de 4 dígitos (ej. HLA-A*0217). Los 2 primeros identifican su relación con el antígeno determinado serológicamente y los 2 siguientes, el subtipo específico asignado por el comité. En 1990 se decidió aumentar un quinto dígito para tomar en cuenta los alelos que difieren únicamente en sustituciones silenciosas, no codificantes, dentro de los exones de un alelo (ej. HLA-A*02172). Otros 2 dígitos fueron agregados en 1995 para nombrar alelos con variación fuera de las regiones expresadas de la secuencia o polimorfismos dentro de los intrones y las secuencias 5' y 3' que flanquean (ej. HLA-A*0217216). En ese mismo año se introdujo la letra N que indica alelo nulo y la letra L que indica baja expresión, entre otras. (29,30). El objetivo principal de este trabajo fue conocer si la estructura genética de las tres poblaciones mestizas de México estudiadas, eran similares en términos de los polimorfismos de DNA, específicamente en HLA-A. En caso de serlo, esto sería de gran ayuda primeramente en los futuros estudios de diseño de caso-control en la búsqueda de la asociación de marcadores de DNA con enfermedades que afectan a la población Mexicana y su aplicación dentro de la genética forense.

Materiales y Métodos

Descripción de la muestra. La información genética de estas poblaciones fue colectada como parte de una investigación más amplia de la estructura genética de las poblaciones mestizas mexicanas. La muestra de Nuevo León (México) consistió de 151 participantes, los cuales fueron entrevistados en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León, de 2004 a 2008. Parte de las pruebas se realizaron en estudiantes de medicina y el resto en algunos donadores del banco de sangre del Hospital Universitario. La distribución de padres y abuelos se observa en la Tabla 1. En la muestra de Jalisco (México), 103 individuos fueron tamizados para HLA-A. Ellos eran personas no emparentadas que vivían en el área metropolitana de Guadalajara. Todos ellos tenían padres y abuelos mestizos mexicanos y eran originarios principalmente del estado de Jalisco (31). Los individuos muestreados en Jalisco fueron empleados del IMSS, sus familiares o estudiantes voluntarios de la Universidad de Guadalajara. La muestra del Distrito Federal (México) fue seleccionada con propósitos comparativos y consistió en la información de frecuencias alélicas para HLA-A recopilada por Barquera y colaboradores. (32)

Todas las personas estudiadas por las diferentes investigaciones citadas otorgaron su consentimiento escrito para analizar su genoma.

TABLA 1. Porcentaje de inmigración al estado de Nuevo León de acuerdo al lugar de nacimiento de sus abuelos.

Lugar de Nacimiento	Paterno		Materno		Total	% de inmigración
	Abuelo	Abuela	Abuelo	Abuela		

Nuevo León	82	84	81	82	329	0.00
Coahuila	38	36	37	36	147	24.34
Tamaulipas	29	29	31	29	118	19.54
Otros Estados	2	2	2	4	10	1.65
Total	151	151	151	151	604	45.53

Preparación de la muestra. El DNA fue extraído de leucocitos de sangre periférica mediante el método descrito por Miller y Cols. (33).

Tipificación de HLA-A. Se realizó la amplificación del exón 2 y 3 mediante PCR múltiplex. Se usó una mezcla de cuatro iniciadores para el exón 2 y seis para el exón 3, sintetizados por Invitrogen (34,35). Los fragmentos de amplificación esperados eran de 979 pb para HLA-A. Como control positivo se utilizó un fragmento no polimórfico de la hormona de crecimiento humano de 392 pb (36). La PCR se realizó en un termociclador PTC-100 con 32 ciclos en total y las siguientes condiciones(37):

Desnaturalización 94°C por 5 min.	
Desnaturalización 94°C por 30 seg.	10 ciclos
Alineamiento 66°C por 50 seg.	
Extensión 72°C por 22 seg.	
Desnaturalización a 94°C por 20 seg	
Alineamiento 65°C por 50 seg.	
Extensión 72°C por 22 seg.	
Extensión final a 72°C por 10 min	

Se realizaron corrimientos tanto en acrilamida - bisacrilamida 6X proporción 29:1 con tinción de plata, (Ver Figura 4) como en agarosa al 1 por ciento teñido con bromuro de etidio. Los resultados obtenidos fueron clasificados de acuerdo a la tabla de alelos más frecuentes (Ver Tabla 2).

FIGURA 4. Corrimiento electroforético del HLA-A en poliacrilamida. Muestra N°003. MPM: Marcador de peso molecular; A-K: alelos HLA; (-): control negativo. HGH: Hormona de crecimiento, control positivo; Presencia de banda en B y G



Tabla 2. Grupos alélicos más frecuentes propuestos por Kurz (27 38).

Grupo	Exón 2	Exón 3	Alelos HLA amplificados
01	C	F	A*0101, A*0102, A*0103, A*0104N, A*3601

02	B	G	A*02011, A*02012, A*0202, A*0203, A*0204, A*0205, A*0206, A*0207, A*0210, A*0211, A*0212, A*0213, A*0214, A*0215N, A*0216, A*02171, A*02172, A*0218, A*0219, A*0221, A*0222, A*0224, A*0225, A*0226, A*2408
03/11	C	H	A*0301, A*0302, A*0303N, A*0304, A*1101, A*1102, A*1103, A*1104, A*8001
24	B	E	A*2301, A*2402101, A*24021021, A*2403, A*2404, A*2405, A*2406, A*2407, A*2409N, A*2410, A*2411N, A*2413, A*2414
26/33/66	A	I	A*2501, A*2502, A*2601, A*2602, A*2603, A*2604, A*2605, A*2606, A*2608, A*2609, A*2610, A*2611N, A*3301, A*3303, A*3401, A*6601, A*6602, A*6603
2607	A	G	A*2607
29	C	K	A*2901, A*2902, A*2903
30	D	H	A*3001, A*3002, A*3003, A*3004, A*3006
31/32/74	A	H	A*31012, A*3201, A*3202, A*7401, A*7402, A*7403
68	C	I	A*3402, A*68011, A*68012, A*68031, A*68032, A*6804, A*6805
4301	A	K	A*4301
6802/69	B	I	A*6802, A*6901
02	B	H	A*0208, A*0220
68	D	I	A*6806

Métodos Estadísticos. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo en cinco partes, En la primera las frecuencias alélicas fueron estimadas por el método de conteo genético (39). En la segunda, la posible desviación de las expectativas de Hardy-Weinberg (HWE) fueron analizadas mediante tres pruebas: homocigosidad (40), razón de verosimilitud (41) y prueba exacta (42). La Tercera fue la prueba RXC con 50,000 simulacros utilizada para analizar la homogeneidad de las tres poblaciones Mestizas para HLA-A por separado (43). La cuarta consistió en la prueba de componentes principales mediante el paquete SPSS v17.0. Finalmente los parámetros forenses de heterocigosidad (h) observada y esperada así como el contenido de información polimórfica (PIC) fueron obtenidos para cada una de las poblaciones mestizas (44).

Resultados

La distribución de las frecuencias alélicas para HLA-A para las diferentes poblaciones incluidas se muestran en la Tabla 3. El alelo más frecuente fue el A*02 en todos los casos.

Tabla 3. Frecuencias alélicas de HLA-A en poblaciones mestizas mexicanas, latinoamericana, caucásica y africana. (45, 46,47)

Gene HLA-A	Monterrey	Guadalajara	Distrito Federal	Caucásica	Africana	Latinoamericana
* 01	.0298	.0686	.0590	.1518	.0572	.0740
* 02	.3013	.2157	.3228	.2865	.1888	.2811
* 03 - *11	.1357	.1274	.0708	.1338	.0844	.0807
* 23	.0000	.0000	.0249	.0182	.1020	.0292
* 24	.1423	.1568	.1640	.0932	.0296	.1326
* 25	.0000	.0000	.0131	.0211	.0043	.0119
* 2607	.0166	.0292	.0301	.0387	.0282	.0326
*26 - *33 – 66	.0397	.0784	.0670	.0510	.0960	.0594
* 29	.0430	.0686	.0315	.0357	.0320	.0451
* 30	.0198	.0490	.0367	.0250	.1309	.0448

* 31 - *32 - *74	.0563	.0833	.0800	.0669	.0502	.0755
* 34	.0000	.0000	.0052	.0150	.0000	.0000
* 36	.0000	.0000	.0026	.0000	.0000	.0000
* 4301	.0033	.0000	.0000	.0000	.0000	.0000
* 68 - * 69	.1423	.1470	.1193	.0446	.0992	.0807

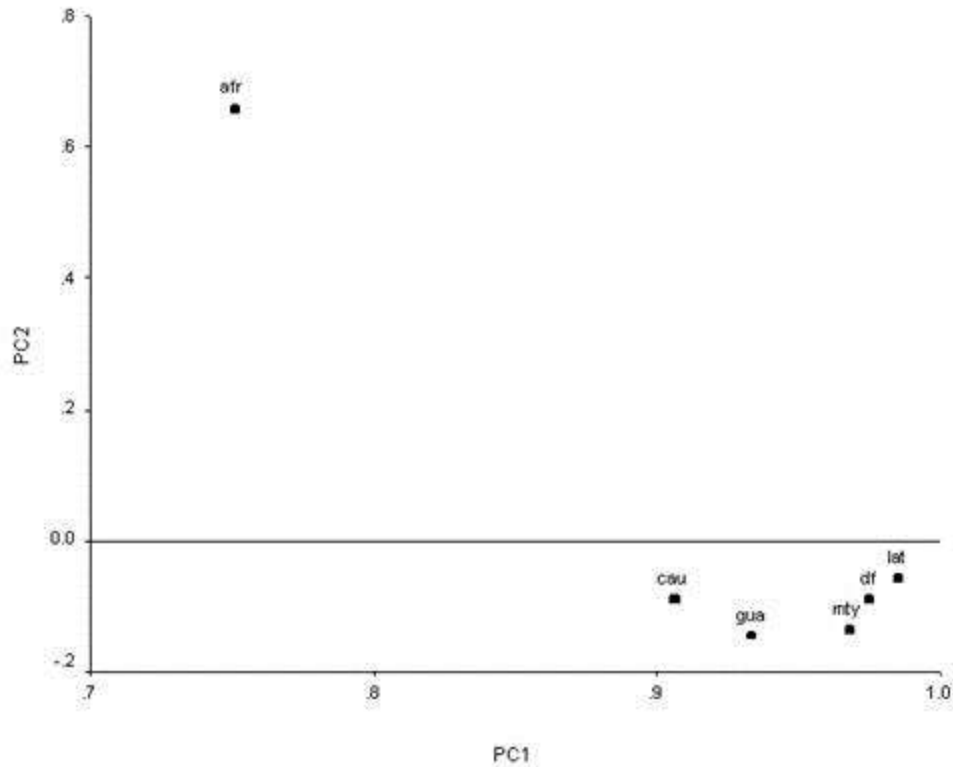
Frecuencias genotípicas HWE: Las expectativas de HWE analizadas mediante tres pruebas: homocigosidad, razón de verosimilitud y prueba exacta, no se desvían de HWE para las frecuencias genotípicas de HLA-A en las muestras de Nuevo León, Jalisco, y Distrito Federal ($P > 0.05$). En la Tabla 4 se muestran algunos parámetros forenses como la heterocigosidad (observada y esperada) y el PIC obtenidos al utilizarse las frecuencias alélicas. Las heterocigosidades están arriba del 80% lo que valida el tamaño de muestra de las tres poblaciones dado que de 100 a 150 individuos es suficiente siempre y cuando la heterocigosidad sea mayor al 70%.

TABLA 4. Evaluación de los Parámetros forenses en tres poblaciones mestizas mexicanas.

Parámetros forenses	Monterrey	Guadalajara	Distrito Federal
	N = 151	N = 103	N= 381
Heterocigosidad observada	0.8421	0.8653	0.8312
Heterocigosidad esperada	0.8449	0.8695	0.8327
PIC	0.8266	0.8508	0.8146
HWE	> 0.05	> 0.05	> 0.05

La comparación de las frecuencias absolutas en las tres poblaciones mestizas mediante la prueba RxC con 50,000 simulacros no reveló diferencias significativas, lo que demuestra la homogeneidad de las tres poblaciones ($P > 0.05$). Mediante el análisis de componentes principales (análisis multivariado) utilizando las frecuencias alélicas de las poblaciones mestizas, caucásicas, africanas y latinoamericanas se constata el resultado anterior. La figura 5 muestra en el plano bidimensional la dispersión de las poblaciones Caucásica y Africana y la cercanía de las poblaciones mestizas y latinoamericanas a partir de las frecuencias alélicas del sistema HLA-A. Cabe señalar que la desviación del segundo componente muestra una variabilidad del 93.5 por ciento lo que valida fuertemente lo anteriormente mencionado.

FIGURA 5. Representación esquemática de las poblaciones mestizas mexicanas (df: Distrito Federal, mty: Monterrey, gua: Guadalajara), caucásicas (cau), africana (afr) y latinoamericana (lat) mediante el análisis de componentes principales.



Discusión

En el presente estudio se encontraron similitudes en el sistema HLA-A de las poblaciones mestizas de Monterrey, Guadalajara y el Distrito Federal. Los resultados aquí encontrados son similares a los reportados en el 2001 por Cerda-Flores y colaboradores utilizando el sistema HLA-DQA1 (48). Los mestizos de los Estados de Nuevo León, Jalisco y el Distrito Federal tienen similares frecuencias alélicas. Este hallazgo tiene profundas implicaciones en los estudios de asociación de enfermedades genéticas en poblaciones mestizas mexicanas. La homogeneidad genética de las poblaciones mestizas facilitará el muestreo, tanto de individuos afectados, como de controles sin necesidad de información sobre entidad federativa de origen o migración. Lo anterior abre la posibilidad de facilitar la colección de series numerosas de casos y controles. Por otra parte, el hecho de que este sistema tenga una alta heterocigosidad (> 80 por ciento) lo hace de gran utilidad dentro del campo de la genética forense.

Resumen

El objetivo del presente estudio de genética de poblaciones fue conocer si la estructura genética de tres poblaciones mestizas mexicanas mediante el uso sistema HLA-A era genéticamente homogénea. Además de las frecuencias alélicas de las tres poblaciones mexicanas (Estados de Nuevo León, Jalisco y el Distrito Federal), se incluyeron las de las poblaciones latinoamericanas, caucásicas y africanas. El análisis multivariado de componentes principales nos indicó que el sistema HLA-A para las tres poblaciones mexicanas presentó homogeneidad genética y los parámetros forenses indicaron que este sistema es de utilidad en los sistemas legales y posiblemente en la asociación con algunas enfermedades.

Palabras clave: HLA-A, Mestizos, México, homogeneidad genética, forense

Abstract

The aim of this population genetic study was to know if the genetic structure of three Mexican mestizo populations based on the HLA-A system was genetically homogeneous. Besides of the allelic frequencies of the Mexican

populations (States of Nuevo León, Jalisco and Federal District), were included Latino American, Caucasian, and African populations. The multivariate analysis of principal components showed that the HLA-A system for these Mexican populations were genetically homogeneous and that the forensic parameters can be used into the legal system and in the association with some diseases.

Key words: HLA-A, Mestizos, México, genetic homogeneity, forensic

Agradecimientos

Dr. Luis Eugenio Todd, Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Nuevo León. Por el apoyo económico al proyecto. Dr. Fernando Pérez Chávez. Departamento de Patología Clínica. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL). Por el apoyo de infraestructura y económico al proyecto. Doctores Caridad A. Leal Cortés y Francisco Mendoza Carrera. Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS. Por su asesoría de laboratorio. Dra. Rocío Ortiz López. Unidad de Diagnóstico Molecular. Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina de la UANL. Al personal de Banco de Sangre del Hospital Universitario.

Referencias

1. Censo, 2005. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. 2005. XIII Censo general de población y vivienda. México, DF: Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (<http://www.inegi.org.mx>)
2. Silva-Zolezzi I, A Hidalgo-Miranda, J Estrada-Gil, JC Fernández-Lopez, L Uribe-Figueroa, A Contreras, E Balam-Ortiz, L del Bosque-Plata, D Velásquez-Fernandez, C Lara, R Goya, E Hernández-Lemus, C Dávila, E Barrientos, S March and J G iménez-Sanchez. 2009. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(21):8611-8616.
3. Rubi-Castellanos R, G Martínez-Cortés, JF Muñoz-Valle, A González-Martín, RM Cerda-Flores, Anaya- M Palafox and H Rangel-Villalobos. 2009. Pre-Hispanic Mesoamerican demography approximates the present-day ancestry of Mestizo throughout the territory of Mexico. *Am J Phys Anthropol* 139:284-294.
4. Cerda-Flores RM, E Ramírez-Fernández and R Garza-Chapa. 1987. Genetic admixture and distances between populations from Monterrey, Nuevo León, México and their putative ancestral populations. *Hum Biol* 59:31-49.
5. Cerda-Flores RM y R Garza-Chapa. 1988. Cambios en las frecuencias de incompatibilidad para ABO y Rh(D) en tres generaciones de la población del área metropolitana de Monterrey, Nuevo León, México. *Arch Med Res (México)* 19:79-89.
6. Cerda-Flores RM and R Garza-Chapa. 1989. Variation in the gene frequencies of three generations of humans from Monterrey, Nuevo León, México. *Hum Biol* 61:249-261.
7. Cerda-Flores RM, GK Kshatriya, SA Barton, CH Leal-Garza, R Garza-Chapa, WJ Schull and R Chakraborty. 1991. Genetic structure of the populations migrating from San Luis Potosi and Zacatecas to Nuevo León in México. *Hum Biol* 63:309-327.
8. Cerda-Flores RM, SA Barton, CL Hanis and R Chakraborty. 1994. Genetic variation by birth cohorts in Mexican Americans of Starr County, Texas. *Am J Hum Biol* 6:669-674.
9. Cerda-Flores RM and MI Dávila-Rodríguez. 2000. Natural fertility in northeastern México. Genetic structure by birthyear and birthplace. *Arch Med Res, México* 31:520-525.
10. Crawford M, R Lisker and Perez-Briceño. 1976a. Genetic microdifferentiation of two transplanted Tlaxcaltecan populations. In: Crawford M, editor. *The Tlaxcaltecan, prehistory, demography, morphology and genetics*. Publications in Anthropology 7. Lawrence, Ks.: University of Kansas, 169-175.

11. Crawford M, PL Workman, McLean and FC Lees. 1976b. Admixture estimates and selection in Tlaxcala. In: Crawford M, editor. The Tlaxcaltecs, Prehistory, Demography, morphology and genetics. Publications in Anthropology 7. Lawrence, Ks.: University of Kansas, 161-168.
12. Garza-Chapa R. 1983. Genetic distances for ABO and Rh (D) blood groups in the state of Nuevo León, México. Soc Biol 30:24-31.
13. Lisker R. 1981. Estructura genética de la población Mexicana: Aspectos médicos y antropológicos. México: Salvat Mexicana de Ediciones.
14. Alaez C, E Infante, J Pujol, C Duran, JL Navarro and C Gorodezky. 2002. Molecular analysis of HLA-DRB1, DQA1, DQB1, DQ promoter polymorphism and extended class I/class II haplotypes in the Seri Indians from Northwest Mexico. Tissue Antigens 59(5):388-396.
15. Leal CA, F Mendoza-Carrera, F Rivas, S Rodríguez-Reynoso and E Portilla-de Buen. 2005. HLA-A and HLA-B allele frequencies in a mestizo population from Guadalajara, Mexico, determined by sequence-based typing. Tissue Antigens. 66(6):666-673.
16. Arnaiz-Villena A, G Vargas-Alarcon, J Granados, E Gómez-Casado, J Longas, M González-Hevilla, J Zuñiga, N Salgado, G Hernandez-Pacheco, J Guillen and J Martinez-Laso. 2000. HLA genes in Mexican Mazatecs, the peopling of the Americas and the uniqueness of Amerindians. Tissue Antigens 56(5):405-416.
17. MGT/HLA database <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/intro.html>
18. Infante E, A Olivo, C Alaez, F Williams, D Middleton, G de la Rosa, MJ Pujol, C Durán, JL Navarro and C Gorodezky. 1999 Molecular analysis of HLA class I alleles in the Mexican Seri Indians: implications for their origin. Tissue Antigens 54 (1):35-42.
19. Cortes LM, LM Baltazar, FJ Perea, MP Gallegos-Arreola, SE Flores, L Sandoval, N Olivares, MG Lorenz, H Xu, SA Barton, R Chakraborty and F Rivas. 2004. HLA-DQB1, -DQA1, -DRB1 linkage disequilibrium and haplotype diversity in a Mestizo population from Guadalajara, Mexico. Tissue Antigens 63(5):458-465.
20. Parslow T, D Stites, A Terr and J Imboden. 2002. Inmunología Básica y Clínica, Manual Moderno. 10ª Ed; Capítulo 6:80-96.
21. *Idem.*
22. *Idem.*
23. Farreras P y C Rozman. 2000. Medicina Interna Vol. 2, Elsevier. 14ª Ed.; Sección 20:3059-3185.
24. *Idem.*
25. Mendoza Carrera F. 2003. Identificación de alelos de los genes HLA-A y HLA-B en población mestiza del estado de Jalisco TESIS Universidad de Guadalajara.
26. MGT/HLA database, *Op.cit.*
27. Farreras P y C Rozman, *Op.cit.*
28. Mendoza Carrera F., *Op.cit.*
29. Martínez-Álvarez J. 2005. El papel del complejo principal de histocompatibilidad en el trasplante de células progenitoras hematopoyéticas. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 43:87-89.

30. Schreuder GM, CK Hurley, SG Marsh, M Lau, M Maiers, C Kollman and H Noreen. 1999. The HLA dictionary 1999: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ antigens. *Tissue Antigens* 54(4):409-437.
31. Leal CA, *et.al.*, *Op.cit.*
32. Barquera R, J Zuñiga, R Hernández-Díaz, V Acuña-Alonzo, K Montoya-Gama, J Moscoso, D Torres-García, C García-Salas, B Silva, D Cruz-Robles, A Arnaiz-Villena, G Vargas-Alarcón and J Granados. 2008. HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Mol Immunol* 45(4):1171-1178.
33. Miller SA, DD Dykes and HF Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16(3):1215.
34. Crawford M, *et.al.* 1976b, *Op.cit.*
35. Arnaiz-Villena A, *et.al.*, *Op.cit.*
36. Kurz B, I Steiert, G Heuchert and C Müller. 1999. New high resolution typing strategy for HLA-A locus alleles based on dye terminator sequencing of haplotypic group-specific PCR-amplicons of exon 2 and exon 3. *Tissue Antigens* 53(1):81-96.
37. Parslow T, *et.al.*, *Op.cit.*
38. Kurz B, *et.al.*, *Op.cit.*
39. Li CC. 1976. First course in population genetics. Pacific Grove, CA: The Boxwood Press.
40. Nei M and AK Roychoudhury. 1974. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics* 76:379-390.
41. Weir BS. 1992. Independence of VNTR alleles defined by fixed bins. *Genetics* 130:873-887.
42. Guo SW and EA Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48:361-372.
43. Roff DA and P Bentzen. 1989. The statistical analysis of mitochondrial DNA polymorphisms: χ^2 and the problem of small samples. *Mol Biol Evol* 6(5):539-545.
44. Mori M, PG Beatty, M Graves, KM Boucher and EL Milford. 1997. HLA gene and haplotype frequencies in the North American population: the National Marrow Donor Program Donor Registry. *Transplantation* 64(7):1017-1027.
45. Mendoza Carrera F, *Op. cit.*
46. Barquera R, *et. al.*, *Op. cit.*
47. Mori M, *et. al.*, *Op. cit.*
48. Cerda-Flores RM, MC Villalobos-Torres, HA Barrera-Saldaña, LM Cortes-Prieto, LO Barajas, F Rivas, A Carracedo, Y Zhong, SA Barton and R Chakraborty. 2002. Genetic admixture in three Mexican mestizo populations based on D1S80 and HLA-DQA1. *Am J Hum Biol* 14(2):257-263.