

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE CAMAGÜEY”  
SIMPOSIO DE LAS CIENCIAS BÁSICAS BIOMÉDICAS “VICTORIA DE GIRÓN”**

**CARACTERIZACIÓN DEL POLIMORFISMO DEL GEN ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO  
G EN GESTANTES CAMAGÜEYANAS**

**CHARACTERIZATION OF THE GENETIC POLYMORPHISM OF HUMAN LEUKOCYTE  
ANTIGEN G GENE IN PREGNANT WOMEN FROM CAMAGÜEY**

**Dr. Gerardo Brunet Bernal** <sup>1\*</sup> ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9302-3054>

**Dra. Grethel Camejo Sampedro** <sup>2</sup> ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0662-2364>

**Dra. Orisel del Carmen Rodríguez Abalo** <sup>3</sup> ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2838-829X>

<sup>1</sup> Doctor en Medicina. Especialista de Segundo Grado en Farmacología. Profesor Asistente. Universidad de Ciencias Médicas. Centro de Inmunología y Productos Biológicos. Camagüey. Cuba. [gerardobb.cmw@infomed.sld.cu](mailto:gerardobb.cmw@infomed.sld.cu)

<sup>2</sup> Doctor en Medicina. Especialista de Primer Grado en Neurología. Profesor Auxiliar. Hospital Municipal de Florida Manuel Fajardo Rivero. Camagüey. Cuba. [grethelcamejosampedro@gmail.com](mailto:grethelcamejosampedro@gmail.com)

<sup>3</sup> Doctor en Medicina. Especialista de Primer Grado en Ginecología y Obstetricia. Profesor Auxiliar. Hospital Materno Ana Betancourt de Mora. Camagüey. Cuba. [oriselrodriguezabalo@gmail.com](mailto:oriselrodriguezabalo@gmail.com)

## **RESUMEN**

**Introducción:** Algunas variantes polimórficas del gen antígeno leucocitario humano G se han asociado a trastornos durante el embarazo, no obstante, en Cuba son escasos los estudios al respecto. El polimorfismo antígeno leucocitario humano G inserción/delección de 14 pares de bases resulta de los más comunes asociados al aborto, por lo que el presente estudio se dirige a la caracterización de este último en gestantes camagüeyanas.

**Objetivo:** Caracterizar el polimorfismo 14 pares de bases inserción/delección en el exón 8 de la región tres primas no traducible del gen antígeno leucocitario humano G en gestantes camagüeyanas.

**Métodos:** se realizó un estudio descriptivo, de corte transversal que incluyó 65 gestantes. Para el estudio se adquirió el ácido desoxirribonucleico humano a partir de sangre periférica, se efectuó la reacción en cadena de la polimerasa para la tipificación molecular de los genotipos y alelos que se identificaron mediante electroforesis en gel de agarosa.

**Resultados:** la relación ADN/proteína media fue adecuada. El genotipo más frecuente deleción/deleción, mientras que, el alelo deleción predominó en la población estudiada.

**Conclusiones:** En el grupo de pacientes estudiadas predominó el alelo deleción en homocigosis, lo cual sugiere que en gestantes sin antecedentes de aborto recurrente este alelo resulta determinante en la futura evolución de la gestación.

**DeCS:** POLIMORFISMO GENÉTICO; FRECUENCIA GENOTÍPICA Y REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA.

## ABSTRACT

**Introduction:** Some polymorphic variants of the human leukocyte antigen G gene have been associated with disorders during pregnancy, however, in Cuba there are few studies in this regard. The human leukocyte antigen G polymorphism insertion/deletion of 14 base pairs is one of the most common polymorphisms associated with abortion, so the present study is aimed at the characterization of the latter in pregnant women from Camagüey.

**Objective:** To characterize the 14 base pair insertion/deletion polymorphism in exon 8 of the three non-translatable prime region of the human leukocyte antigen G gene in pregnant women from Camagüey.

**Methods:** a descriptive, cross-sectional study was carried out that included 65 pregnant women. For the study, human deoxyribonucleic acid was acquired from peripheral blood, the polymerase chain reaction was carried out for the molecular typing of the genotypes and alleles that were identified by agarose gel electrophoresis.

**Results:** the average DNA/protein ratio was adequate. The most frequent genotype was deletion/deletion, while the deletion allele predominated in the studied population.

**Conclusions:** In the group of patients studied, the homozygous deletion allele predominated, which suggests that in pregnant women without a history of recurrent abortion this allele is decisive in the future evolution of the pregnancy.

**DeCS:** GENETIC POLYMORPHISM; GENOTYPE FREQUENCY AND POLYMERASE CHAIN REACTION.

## INTRODUCCIÓN

El gen HLA-G (*Human leukocyte antigens*) tiene de 4396 pares de bases (pb) y se halla constituido con una región promotora 5', ocho exones, siete intrones y una región no traducible (3'UTR). La región promotora contiene una secuencia variante TCTAAA y 24 pb aguas arriba de la misma se identifica la secuencia CCAAT. Ambas secuencias están conservadas en los genes HLA-A, -B y -C (Botelho, 2020). A diferencia de los genes HLA-I clásicos, el gen HLA-G presenta exiguos polimorfismos, por lo general este fenómeno se presenta en los exones 2, 3 y 4 así como en algunos intrones. No obstante, estas variaciones genéticas no perturban la estabilidad ni la funcionalidad de la proteína. Cuando el polimorfismo afecta las regiones reguladoras de HLA-G dígase región promotora 5' o región no traducible 3'UTR las consecuencias para el producto del gen son indiscutibles y aparecen alteraciones en la

regulación, expresión y estabilidad del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) (Vaquero-Yuste et al., 2021),(Enríquez de Salamanca Carrascosa, 2017).

Así mismo, en la región 3' UTR se describen motivos ricos en bases AU y ciertos elementos reguladores relacionados con la expresión temporo-espacial del ARNm. Entre los polimorfismos más significativos se destaca: polimorfismo de nucleótido simple (PNS) en la posición +3142 C/G y +3187 A/G relacionados con la degradación y disminución de la expresión del ARNm de HLA-G respectivamente. También se identificó el polimorfismo de inserción o delección de un fragmento de 14-pb (14-pb ins/del) (5'ATTTGTTTCATGCCT-3') a nivel del exón 8 que conlleva a la aparición de un sitio de corte y empalme alternativo del ARNm con la correspondiente pérdida de 92 pares de bases alterándose la estabilidad de esta molécula (Nilsson et al., 2020);(Emadi, Akhoundi, Kalantar, & Emadi-Baygi, 2020). Durante el embarazo se producen un conjunto de cambios fisiológicos en las gestantes que garantizan el bienestar del producto de la concepción. Es el útero el único sitio en la mujer donde el feto y la placenta son tolerados por la madre y esto es resultado de la alta expresión de la molécula HLA-G en el transcurso de la gravidez. A pesar de que el feto porta antígenos paternos este no es rechazado lo cual se explica por la acción inhibitoria que ejerce HLA-G sobre las células de defensa de la madre, mediado por los receptores LILR (B1 y B2), KIR2DL4 y CD8 (Rouas-Freiss et al., 2021)

En este sentido, durante la implantación del cigoto se expresan ciertas isoformas (HLA-G 3 y -G4), cuyas concentraciones se van incrementando en la medida que avanza la gestación. Sin embargo, la isoforma más abundante en el trofoblasto es HLA-G1. Por otro lado, las isoformas solubles también incrementan sus concentraciones y en el caso de la HLA-G 5 puede aumentar más de 3 veces en mujeres con estado de gravidez y regulan positivamente la expresión de interleucinas antiinflamatorias (IL-3, IL-4 y IL-10). De manera general, las HLA-G solubles son detectables durante todo el embarazo y tienden a descender sus concentraciones a partir del tercer trimestre (Enríquez de Salamanca Carrascosa, 2017). Varios estudios apuntan a que la detección de niveles bajos de HLA-G solubles en el plasma se asocia a trastornos en el embarazo como la preclamsia y el aborto recurrente. Esto se explica por la correlación negativa entre los niveles bajos de HLA-G/ IL inflamatorias estas últimas se ha demostrado que juegan un papel crucial en el desarrollo de estas enfermedades (Merdas, Iqbal, & Alyasiri, 2022).

Ciertos autores encontraron asociación entre el polimorfismo (14-pb ins/del) con el aborto recurrente mientras que otros lo refutan. La realidad es que 14-pb inserción en homocigosis se asocia a bajos niveles de la proteína HLA-G, mientras que altos niveles de HLA-G solubles se han detectado en individuos con polimorfismo 14-pb delección en homocigosis. Lo anterior abordado sugiere que se deben desarrollar más estudios al respecto pues aún no se ha encontrado consenso (Enríquez de Salamanca Carrascosa, 2017). En Cuba y en particular Camagüey son insuficientes los estudios que abordan la caracterización de este tipo de

polimorfismo en la población de gestantes camagüeyanas por lo que se plantea como objetivo caracterizar el polimorfismo 14 pares de bases inserción/delección en el exón 8 de la región tres primas no traducible del gen antígeno leucocitario humano G en gestantes camagüeyanas.

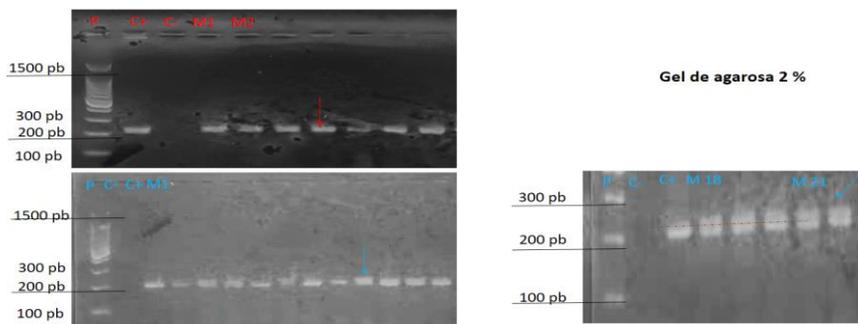
## 1. DESARROLLO

### 1.1. Metodología

Se realizó un estudio descriptivo transversal en la Universidad de Camagüey Ignacio Agramante Loynaz en el periodo comprendido de enero de 2022 a diciembre de 2024. La extracción de sangre se realizó en el laboratorio clínico del hospital materno bajo el cumplimiento de las condiciones de asepsia y antisepsia establecidas. Tras ser firmado el consentimiento informado de voluntariedad, se realizaron 65 extracciones sanguíneas que procedieron de gestantes aparentemente sanas. Extracción de ADN genómico: la extracción del ADN genómico se realizó luego de la descongelación de las muestras sanguíneas. Para ello se empleó un protocolo basado en un Kit de purificación de ADN ( *Wizard® Genomic DNA Purification Kit*) (Queipo-Ortuno, Tena, Colmenero, & Morata, 2008).

Genotipificación del polimorfismo 14-pb exon 8 (3'UTR) del gen HLA-G: el polimorfismo HLA-G se genotipo mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), bajo las siguientes condiciones: precalentamiento a 94 °C por 2 min, desnaturalización en 35 ciclos a 34 °C por 30 s, 64 °C por 60 s y 72 °C por 60 s, extensión final de 72 °C por 10 min. La preparación de master Mix fue realizada en 25 µL de volumen final: Buffer 10X 2.5 µL, dNTP 0.2 mM 0.5 µL, Taq ADN polimerasa 0.75U 1µL y 10 pmol de cada primers (forward 5'-GTGATGGGCTGTTTAAAGTGTCACC-3' y reverse 5'-GGAAGGAATGCAGTTCAGCATGA-. Una vez obtenido y amplificado el material genético se procedió al revelado de las bandas de ADN.

Revelado de las bandas de ADN: una vez obtenido el producto de amplificación, se ha llevado a cabo un análisis electroforético para identificar y aislar el fragmento deseado. Para ello se empleó un gel de agarosa (UltraPure™ Agarose, invitrogen) al 3 % en tampón TAE 1X (Tris-Acetato-EDTA). En el proceso se incluyó un marcador de peso molecular (DNA Molecular Weight Marker 100 base pair ladder, PROMEGA) para identificar el fragmento deseado, próximo a los 270 pares de bases (pb). Para poder observar las bandas en el gel, este se ha teñido en Roti-GelStain Red que emite fluorescencia al ser sometido a radiación ultravioleta (figura 1).



**Figura 1.** Electroforesis de ADN en gel de agarosa. Representa el producto de la amplificación del gen HLA-G en muestras controles (gel superior) y de estudio (gel inferior). Flecha roja señala genotipo homocigótico para alelo deleción (del). La flecha azul indica genotipo heterocigótico.

Procesamiento estadístico de los datos: para el procesamiento estadístico de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versión 21 para *Windows*. Se determinaron media aritmética y desviación estándar, así como frecuencia relativa absolutas y porcentajes para obtener las frecuencias alélicas y genotípicas. Los datos se resumieron en tablas. Aspectos éticos: en todo momento se cumplió con lo postulado en la declaración Helsinki (Manzini, 2000). Las muestras empleadas, se obtuvieron de individuos que dieron su consentimiento a participar en el estudio. Fueron respetados todos los derechos de los individuos que participaron en la investigación. Los resultados obtenidos fueron empleados con fines científicos.

## 1.2. Resultados

Se analizó un total de 65 muestras, de las cuales la relación ADN/proteínas tuvo una media de 1,7, mientras que la desviación estándar no superó el valor 0,09.

Tabla 1. Relación ADN/proteína en muestras sanguíneas de gestantes camagüeyanas

Relación	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Relación ADN/proteínas en muestras del grupo control	65	1,5	2,0	1,705	,0891

El genotipo del/del fue el más común en el grupo de gestantes estudiadas con un 53,8 %. Mientras que el genotipo ins/ins se encontró en 19 de las 65 gestantes, lo que representa el 29,2 %. Solo en el 16,9 % de los casos estudiados se encontró el genotipo ins/del.

Figura 2. Frecuencia genotípica de gestantes camagüeyanas

Genotipo		Frecuencia	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Variantes genotípicas	ins/ins	19	29,2	29,2
	ins/del	11	16,9	46,2
	del/del	35	53,8	100,0
Total		65	100,0	

El alelo deleción fue el mas frecuente encontrado en el estudio y represento el 63 % del total de alelos, como se muestra en la (Figura 3)

Figura 3. Frecuencia alélica de gestantes camagüeyanas

Alelo		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Variante alélica	ins	49	37,7	37,7	37,7
	del	81	62,3	62,3	100,0
	Total	130	100,0	100,0	

### 1.3. Discusión

En la presente investigación se constató, que el alelo HLA-G 14pb-del fue el más representativo en el total de muestras analizadas. Por otro lado, se confirmó como genotipo más común HLA-G 14pb del/del. Además, el genotipo HLA-G 14-pb del/del al parecer se comporta como un factor protector de complicaciones en el embarazo. Una posible explicación a estos resultados, puede ser el efecto de la inserción de 14-pb en la región 3' UTR exón 8 del gen HLA-G lo cual trae como consecuencias la expresión anormal de la proteína HLA-G y con ello alteraciones inmunológicas que pueden conducir a la amenaza de aborto y aborto. Ahora bien, el alelo HLA-G 14-pb del en homocigosis se asocia con la mayor estabilidad y expresión de la proteína HLA-G, situación que pudiera justificar su mayor representatividad en el grupo de gestantes con antecedentes de salud aparente (Krop et al., 2022)

Un estudio de cohorte prospectivo en 127 parejas infértiles realizado para definir el impacto de los haplotipos del antígeno leucocitario humano extendido (HLA) -G y HLA-F en el tiempo para lograr gestación, medido por el número de ciclos de tratamiento de infertilidad proporciona como hallazgos que, se observa una tendencia a la asociación del alelo de inserción HLA-G de 14-pb con una mayor frecuencia de aborto espontáneo que el alelo deleción de 14-pb. Los investigadores concluyen que tanto la genética HLA de clase Ib masculina como la femenina tienen relevancia clínica en la reproducción (Nilsson et al., 2020). Aunque la actual experiencia

solo incluyó féminas, estas observaciones se ajustan a los datos proporcionados en la presente investigación. Es criterio de los autores que se deben investigar tanto los genes maternos como paternos por su implicación demostrada en el proceso de embarazo ya que el feto expresa antígenos de ambos progenitores.

En este sentido un metaanálisis efectuado en el 2019 que incluyó solo mujeres de países europeos con antecedentes de aborto recurrente y que tuvo como objetivo analizar la controvertida asociación entre el polimorfismo 14-pb (inserción/inserción, inserción/delección, delección/delección) en el exón 8 del gen HLA-G y la pérdida de embarazo recurrente (PER) evidencia que, tras el análisis diez estudios que comprendían 1,091 mujeres con PER y 808 controles sin PER, las mujeres con PER muestran una prevalencia significativamente mayor del genotipo de inserción/inserción de 14-pb de HLA-G en comparación con mujeres sin PER (19,8 % vs. 14,1 %; *odds ratio*=1,562; Intervalo de confianza del 95 %, 1,203–2,027) (Monti, Lupoli, Fernandez, Cirillo, & Di Minno, 2019). Otro punto de vista presentan (Sipak, Rył, Grzywacz, Laszczyńska, Szymański, et al., 2019) cuyos resultados no se ajustan a los encontrados en el presente estudio. Estos investigadores se plantearon como objetivo evaluar cómo la variación del alelo HLA-G y el polimorfismo ins/del de 14-pb de HLA-G influyen en la predisposición a un embarazo complicado. El material clínico estuvo compuesto por parejas de padres con embarazos complicados (210 mujeres; 190 hombres). El grupo de control incluyó parejas de padres sin complicaciones durante el embarazo (89 mujeres; 86 hombres) (Sipak, Rył, Grzywacz, Laszczyńska, Szymański, et al., 2019).

El estudio involucró el aislamiento del ADN del genoma de los leucocitos de sangre periférica, la secuenciación y el análisis del polimorfismo ins/del de 14-pb en la región 3' no traducida (3'-UTR) del gen HLA-G basado en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El alelo HLA-G más común en el grupo de mujeres con embarazos complicados fue el alelo HLA-G 10101. No hubo diferencias significativas en las frecuencias del polimorfismo ins/del de 14-pb en la 3'UTR del gen HLA-G entre los grupos (Sipak, Rył, Grzywacz, Laszczyńska, Szymański, et al., 2019). Los hallazgos en este estudio indican que el riesgo de complicaciones en el embarazo está influenciado por los alelos HLA-G 10101, HLA-G 10108 y HLA-G 10106 y que el polimorfismo ins/del de 14-pb en el 3'UTR del gen HLA-G no tiene efecto alguno en la aparición de complicaciones (Sipak, Rył, Grzywacz, Laszczyńska, Szymański, et al., 2019).

A consideración de los autores, las discrepancias encontradas al comparar los resultados de la actual experiencia con los datos ofrecidos por *Sipak* et al., no se deben a la metodología empleada pues fue muy similar, por otro lado, encuentran una probable explicación en la selección de la población de estudio. Se plantea que individuos procedentes de continentes o poblaciones diferentes presentan variedad en la proporción y frecuencia de los polimorfismos del gen HLA-G (Enríquez de Salamanca Carrascosa, 2017). Los polimorfismos HLA-G tienen un impacto funcional en la expresión de los genes y pueden causar una ruptura de la

tolerancia materna hacia el feto semialogénico, lo que resulta en abortos espontáneos recurrentes (AER). Un estudio donde participaron 75 parejas con  $\geq 2$  abortos espontáneos en comparación con 75 parejas sanas que tenían embarazos normales proporciona como resultados la presencia de polimorfismos de un solo nucleótido (PNS) -762C/T, -725C/G, -716T/G, -689A/G, -486C/A y -477C/G en el 5'-URR (Marik, Nomani, Agarwal, Dadhwal, & Sharma, 2023).

En las posiciones -762 y -477, la frecuencia de homocigotos CC fue mayor en los controles. Así mismo, al analizar el polimorfismo de inserción/delección de 14-pb en el 3'-UTR se encuentra asociación entre el genotipo heterocigótico y el AER en contraste con los controles (Marik et al., 2023). Estos datos no guardan relación con los obtenidos en el actual estudio donde el predominio fue a expensas del genotipo del/del de 14-pb en el 3'UTR. En otro orden de ideas, una experiencia cuya finalidad fue evaluar la relación entre los niveles séricos de HLA-G (sHLA-G) y el HLA-G alelo en parejas de padres con antecedentes obstétricos complicados. Incluyó un total 210 mujeres y 190 hombres con el antecedente de un embarazo complicado o fallido. El control incluía padres (89 mujeres y 86 hombres) sin antecedentes obstétricos complicados (Sipak, Rył, Grzywacz, Laszczyńska, Zimny, et al., 2019).

Como hallazgos los investigadores reflejan que, no existen diferencias significativas en las frecuencias del HLA-G-725 polimorfismo C>G entre grupos experimentales en comparación con el grupo de control ( $p > 0,05$ ). La mediana de los niveles de sHLA-G en las mujeres con el alelo HLA-G10101 fue mayor que en las mujeres con otros alelos. Estos datos no se corresponden con los encontrados en la presente investigación que identifica como alelo más frecuente al HLA-G-14-pb-del exón 8 (Sipak, Rył, Grzywacz, Laszczyńska, Zimny, et al., 2019). De igual modo, no se encontró concordancia en cuanto al alelo factor protector. El alelo HLA-G 10101 parece proteger con una mayor influencia que el alelo HLA-G14-pb-del. El alelo HLA-G 10101 se asocia con un aumento de sHLA-G en suero de los portadores (Sipak, Rył, Grzywacz, Laszczyńska, Zimny, et al., 2019).

A consideración del postulante, el contraste entre los resultados propuestos por la investigación analizada con anterioridad y la actual se debe a la población analizada. El estudio señalado se realizó en población polaca mientras que la actual experiencia se realizó en población cubana cuyo genotipo es más heterogéneo por el efecto del mestizaje (Enríquez de Salamanca Carrascosa, 2017). Una investigación cuyo objetivo se basó en determinar si existe asociación entre el polimorfismo del gen HLA-G en las regiones 3' no traducidas (UTR) y el aborto espontáneo indica que el polimorfismo de un solo nucleótido puede diferir en mujeres con recurrencia inexplicable aborto espontáneo. El estudio incluyó un total de 261 muestras de ADN, de ellas (n=133) fueron de gestantes con aborto espontáneo, mientras que el resto se empleó como grupo de control (Bai et al., 2022).

El estudio proporcionó como resultado que los portadores del genotipo +3010CC exhibieron un mayor riesgo de aborto o amenaza de aborto mientras que los portadores del genotipo +3187GG exhibieron un menor riesgo. Las gestantes que portaban +3010C tenían un mayor riesgo de aborto espontáneo recurrente, mientras que los portadores +3187G exhibieron un menor riesgo de aborto. Por otro lado, los portadores del haplotipo UTR-1 pueden estar asociados con un riesgo reducido de aborto espontáneo (Bai et al., 2022). Estos datos no se relacionan con los obtenidos en la presente experiencia, en la cual el polimorfismo 14-pb del/del en la región 3' no traducida (UTR) del exón 8 representó el genotipo más frecuente en gestantes aparentemente sanas. A opinión de los autores, las discrepancias entre ambas investigaciones en gran parte se deben al diseño metodológico de la ambos estudios ya que en uno se investiga un polimorfismo de nucleótido simple mientras la otra investigación se centra en un polimorfismo de inserción / deleción de un fragmento de ADN, lo cual desde el punto de vista físico y biológico supone diferencias puntuales que explicarían la divergencia entre los resultados encontrados no obstante ambas investigaciones coinciden en que los polimorfismos en la región 3'UTR pueden estar involucrados en desarrollo de aborto espontáneo recurrente y ser un predictor durante el embarazo (Bai et al., 2022)

## CONCLUSIONES

En el grupo de pacientes estudiadas predominó el alelo deleción en homocigosis, lo cual sugiere que en gestantes sin antecedentes de aborto recurrente este alelo resulta determinante en la futura evolución de la gestación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bai, W., Lin, Z., Ye, J., Zhou, L., Xi, J., & Cai, W. (2022). Frequency of HLA-G

UTR-1/UTR-3/UTR-7 in women with unexplained recurrent spontaneous abortion.

*Experimental and Therapeutic Medicine*, 24(6), 1-8. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9634346/>

Botelho, S. M. (2020). Avaliação das moléculas HLA-G e PD-L1 em pacientes submetidos a transplante renal em Goiânia-GO. Disponible en:

<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/11702/3/Tese%20-%20Silvia%20Mar%c3%a7al%20Botelho%20-%202020.pdf>

Emadi, E., Akhoundi, F., Kalantar, S. M., & Emadi-Baygi, M. (2020). Predicting the most deleterious missense nsSNPs of the protein isoforms of the human HLA-G gene and in silico evaluation of their structural and functional consequences. *BMC genetics*, 21(1), 1-27.

Disponible en: <https://bmccgenomdata.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12863-020-00890-y>

Enríquez de Salamanca Carrascosa, M. (2017). Estudio del polimorfismo del gen inmunosupresor HLA-G, en amerindios. Disponible en:

<https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/6346db9b-417d-42ae-93c5-09ed5c8a2d77/content>

Krop, J., Van Der Keur, C., Kapsenberg, J., Den Hollander, F., Van Der Hoorn, M., Heidt, S., . . . Eikmans, M. (2022). Soluble HLA-G blood levels are not increased during ongoing pregnancy in women with a history of recurrent pregnancy loss. *Journal of Reproductive Immunology*, 153, 103665. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165037822001942>

Manzini, J. L. (2000). Declaración de Helsinki: principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos. *Acta bioethica*, 6(2), 321-334. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-569X2000000200010](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X2000000200010)

Marik, B., Nomani, K., Agarwal, N., Dadhwal, V., & Sharma, A. (2023). Role of the HLA-G regulatory region polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous abortions (RSA). *American Journal of Reproductive Immunology*, 90(2), e13740. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37491923/>

Merdas, A. H., Iqbal, M. N., & Alyasiri, N. S. (2022). The Effects of HLA-G Gene Polymorphism and sHLA-G Level in Women with Threatened Abortion. *Journal of Techniques*, 4(2), 69-74. Disponible en: <https://journal.mtu.edu.iq/index.php/MTU/article/view/505>

Monti, M., Lupoli, R., Fernandez, L. M. S., Cirillo, F., & Di Minno, M. N. D. (2019). Association of human leukocyte antigen-G 14 bp polymorphism with recurrent pregnancy loss in European countries: a meta-analysis of literature studies. *Fertility and sterility*, 112(3), 577-585. e573. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31280950/>

Nilsson, L. L., Scheike, T., Langkilde, C. H., Jørgensen, N., Hornstrup, M. B., Perin, T. L., . . . Hviid, T. V. F. (2020). Examining extended human leukocyte antigen-G and HLA-F haplotypes: the HLA-G UTR-4 haplotype is associated with shorter time to pregnancy in an infertility treatment setting when both female and male partners are carriers. *Fertility and sterility*, 114(3), 628-639. Disponible en: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028220304179?ref=pdf\\_download&fr=RR-2&rr=80179aeb1d62221a](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0015028220304179?ref=pdf_download&fr=RR-2&rr=80179aeb1d62221a)

Queipo-Ortuno, M., Tena, F., Colmenero, J., & Morata, P. (2008). Comparison of seven commercial DNA extraction kits for the recovery of Brucella DNA from spiked human serum samples using real-time PCR. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 27, 109-114. Retrieved from <https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-007-0409-y>

Rouas-Freiss, N., Moreau, P., LeMaoult, J., Papp, B., Tronik-Le Roux, D., & Carosella, E. D. (2021). Role of the HLA-G immune checkpoint molecule in pregnancy. *Human Immunology*, 82(5), 353-361. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S019885921000100>

Sipak, O., Rył, A., Grzywacz, A., Laszczyńska, M., Szymański, S., Karakiewicz, B., . . . Cybulski, C. (2019). Molecular analysis of HLA-G in women with high-risk pregnancy and their partners with regard to possible complications. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(6), 982. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/ijerph16060982>

Sipak, O., Rył, A., Grzywacz, A., Laszczyńska, M., Zimny, M., Karakiewicz, B., . . . Cybulski, C. (2019). The relationship between the HLA-G polymorphism and sHLA-G levels in parental pairs

with high-risk pregnancy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(9), 1546. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/ijerph16091546>

Vaquero-Yuste, C., Juarez, I., Molina-Alejandre, M., Molanes-Lopez, E. M., Lopez-Nares, A., Suarez-Trujillo, F., . . . Gomez, R. (2021). HLA-G 3'UTR polymorphisms are linked to susceptibility and survival in Spanish gastric adenocarcinoma patients. *Frontiers in Immunology*, 12, 698438. Retrieved from <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.698438/full>