



# Polimorfismo de inserción/delección del gen antígenos leucocíticos humanos G en embarazadas con amenaza de aborto

## Insertion/deletion polymorphism of the human leukocyte antigen G gene in pregnant women with threatened abortion

Gerardo Brunet Bernal<sup>1,2\*</sup> , Georgina Espinosa López<sup>3</sup> , Isabel Fabiola Pazos Santos<sup>3</sup> ,  
Amilcar Arenal Cruz<sup>4</sup> , Grethel Camejo Sampedro<sup>2,5</sup> , Rogelio Puebla Alonso<sup>3</sup> 

<sup>1</sup>Centro de Inmunología y Productos Biológicos. Camagüey, Cuba.

<sup>2</sup>Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Camagüey, Cuba.

<sup>3</sup>Universidad de la Habana, Facultad de Biología, Departamento de Bioquímica. La Habana, Cuba.

<sup>4</sup>Universidad de la Camagüey, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Departamento de Biología Molecular. Camagüey, Cuba.

<sup>5</sup>Hospital Municipal de Florida "Manuel Fajardo Rivero". Camagüey, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [gerardobb.cmw@infomed.sld.cu](mailto:gerardobb.cmw@infomed.sld.cu)

### Cómo citar este artículo

Brunet Bernal G, Espinosa López G, Pazos Santos IF, Arenal Cruz A, Camejo Sampedro G, Puebla Alonso R: Poliformismo de inserción/delección del gen antígenos leucocitos humanos G en embarazadas con amenaza de aborto. Rev haban cienc méd [Internet]. 2024 [citado ]; Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5586>

Recibido: 18 de enero de 2024

Aprobado: 02 de julio de 2024

### RESUMEN

### ABSTRACT

**Introducción:** El polimorfismo del gen antígenos leucocíticos humanos G se investiga en diferentes complicaciones relacionadas con el embarazo; sin embargo, se debe comprobar si existe asociación entre este polimorfismo genético y la amenaza de aborto.

**Objetivo:** Establecer la asociación genética entre el polimorfismo 14 pares de bases inserción/delección en el exón 8 de la región 3' no traducible del gen antígenos leucocíticos humanos G con la susceptibilidad a la amenaza de aborto en gestantes de Camagüey.

**Material y Métodos:** Se realizó un estudio de caso y control que incluyó 22 gestantes con amenaza de aborto y 65 gestantes (grupo control). Para el estudio se obtuvo el ácido desoxirribonucleico humano a partir de sangre periférica, se aplicó 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:** El genotipo más frecuente en el grupo de gestantes con amenaza de aborto fue inserción/delección, mientras que en el grupo control predominó el genotipo delección/delección.

**Conclusiones:** El polimorfismo inserción/delección de 14 pares de bases en el exón 8 de la región 3' no traducible del gen antígenos leucocíticos humanos G representan un factor de riesgo para la aparición de amenaza de aborto en gestantes de Camagüey, mientras que la expresión del genotipo delección/delección representa un factor protector frente a esta afección de salud.

**Introduction:** The polymorphism of the human leukocyte antigen G gene is investigated in different complications related to pregnancy; however, it must be verified if there is an association between this genetic polymorphism and the threat of abortion.

**Objective:** To establish the genetic association between the 14 base pair insertion/deletion polymorphism in exon 8 of the three non-translatable prime region of the human leukocyte antigen G gene with susceptibility to the threat of abortion in pregnant women from Camagüey.

**Material and Methods:** A case-control study was carried out, involving 22 pregnant women with threatened abortion and 65 pregnant women (control group). For the study, human deoxyribonucleic acid was obtained from peripheral blood, the polymerase chain reaction was used for the molecular typing of the genotypes and alleles that were identified by agarose gel electrophoresis.

**Results:** The most frequent genotype in the group of pregnant women with threatened abortion was insertion/deletion, while in the control group the deletion/deletion genotype predominated.

**Conclusions:** The insertion/deletion polymorphism of 14 base pairs in exon 8 of the 3' non-translatable region of the human leukocyte antigen G gene represents a risk factor for the appearance of threatened abortion in pregnant women from Camagüey, while the expression of the deletion/deletion genotype represents a protective factor against this health condition.

### Palabras Claves:

Amenaza de aborto, polimorfismo genético, antígenos leucocíticos humanos.

### Keywords:

Threat of abortion, genetic polymorphism, human leukocytic antigens.



## INTRODUCCIÓN

El gen HLA-G (Human leukocyte antigens G) presenta una longitud aproximada de 4 396 pares de bases (pb) y se encuentra estructurado 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 hacia el extremo 3' de la misma se identifica la secuencia CCAAT.<sup>(1)</sup>

El gen HLA-G presenta escasos polimorfismos, los cuales se distribuyen en los exones 2,3 y 4 pero cuando estos afectan las regiones reguladoras del HLA-G, dígase región promotora 5' o región no traducible 3' UTR, el producto del gen sufre alteraciones en la regulación, expresión y estabilidad del ácido ribonucleico mensajero (ARNm). El polimorfismo de nucleótido simple (PNS) también se ha detectado en este gen, hasta la fecha 29 son los identificados. El PNS en posición 725, se asocia con abortos espontáneos.<sup>(2,3)</sup>

Al respecto se debe señalar que en la región no traducible 3' UTR en particular, se ha investigado el PNS las posiciones +3142 C/G y +3187 A/G. La presencia del alelo +3187A se relaciona con la expresión reducida de HLA-G por su cercanía al motivo rico en AU.<sup>(2,3)</sup>

Por otro lado, el polimorfismo genético de inserción o delección de un fragmento de 14-pb (14-pb ins/del) (5' ATTTGTTTCATGCCT-3') a nivel del exón 8 conlleva a la aparición de un sitio de corte y empalme alternativo del ARNm, con la correspondiente pérdida de 92 pb lo que altera la estabilidad de esta molécula. Este polimorfismo presenta tres variantes genotípicas que incluyen: inserción/inserción (ins/ins), inserción/delección (ins/del) y delección/delección (del/del), siendo la primera la que mayor relación guarda con los trastornos del embarazo.<sup>(4)</sup>

La proteína HLA-G se ha asociado a la inmunosupresión en procesos como el cáncer y el embarazo. Esta proteína ejerce su función mediante interacciones mediadas por receptores localizados en células de defensa como linfocitos, células asesinas naturales y células presentadoras de antígenos como las células dendríticas. Los receptores de inhibición incluyen: LILR (receptor leucocitario de tipo inmunoglobulina) (B1 y B2), KIR2DL4 (*del inglés, killer cell immunoglobulin-like receptor, receptor de células NK*) y el receptor CD8.<sup>(5)</sup>

Durante el embarazo, el feto y la placenta son tolerados por la madre como resultado de la elevada 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.<sup>(6)</sup>

En este sentido, durante la implantación del cigoto se expresan ciertas isoformas (HLA-G3 y -G4), cuyas concentraciones se incrementan en la medida que avanza la gestación. Sin embargo, la isoforma más abundante en el trofoblasto es HLA-G1. Otras isoformas solubles también incrementan sus concentraciones. La isoforma HLA-G 5 puede aumentar más de tres veces en mujeres con estado de gravidez y regulan la expresión de interleucinas antiinflamatorias tales como IL-3, IL-4 y IL-10. Las HLA-G solubles son detectables durante todo el embarazo y tienden a descender sus concentraciones a partir del tercer trimestre.<sup>(3)</sup>

La detección de niveles séricos bajos de HLA-G se asocia a trastornos en el embarazo tales 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 desempeñan un papel decisivo en el desarrollo de estas enfermedades.<sup>(7)</sup>

Algunos autores han informado que existe una asociación entre el polimorfismo genético (14-pb ins/del) con el aborto recurrente.<sup>(4)</sup> La inserción de 14-pb 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 alelo delección de 14-pb en homocigosis. Se deben desarrollar más estudios al respecto pues aún no existe consenso.<sup>(3)</sup>

En esta dirección, en Cuba no se han documentado estudios que describan el comportamiento de este polimorfismo en embarazadas con amenaza de aborto o antecedentes de abortos espontáneos. Sin embargo, en el contexto actual donde el país presenta una de las poblaciones más envejecidas de América, el número de abortos es alto, la natalidad se encuentra deprimida y la provincia agramontina encabeza el listado de las localidades de Cuba con resultados poco favorables en el programa materno-infantil;<sup>(8)</sup> la realización de esta investigación contribuiría a mejorar estos indicadores.

Este polimorfismo genético se presenta antes de formarse el embrión, por tanto, puede emplearse como factor de riesgo de la amenaza de aborto y el aborto. Además, sobre la base de sus consecuencias inmunológicas, se podrían diseñar estrategias terapéuticas inmunosupresoras para gestantes que presenten estos antecedentes y que porten el polimorfismo, aún cuando no se ha formado el feto. Esto se traduciría en una reducción del riesgo de abortos.

El **objetivo** de esta investigación es establecer la asociación genética entre el polimorfismo 14 pb inserción/delección en el exón 8 de la región 3' no traducible del gen antígenos leucocíticos humanos G con la susceptibilidad a la amenaza de aborto en gestantes de Camagüey.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de casos y controles en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos de la Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey en colaboración con la Universidad de Camagüey “Ignacio Agramante Loynaz” en el período de enero de 2022 a febrero 2024.

Se trabajó con una población donde se constató que el grupo control se hallaba en equilibrio de Hardy–Weinberg (EHW).<sup>(9)</sup> La misma estuvo constituida por gestantes atendidas en el Hospital Universitario Ginecobstétrico “Ana Betancourt de Mora”. La muestra no probabilística intencional quedó conformada por 87 gestantes que se dividieron en dos grupos. La extracción de sangre se llevó a cabo en el laboratorio clínico, bajo el cumplimiento de las condiciones de asepsia y antisepsia establecidas. Fue firmado el consentimiento informado de voluntariedad y se establecieron los siguientes criterios de selección:

### Grupo estudio

Criterios de inclusión: gestantes entre 25 y 35 años, con amenaza de aborto y antecedentes de abortos espontáneos recurrentes.

Criterios de exclusión: antecedentes de discrasias sanguíneas, enfermedades crónicas descompensadas, infecciones y traumatismos en el sistema genitourinario.

### Grupo control

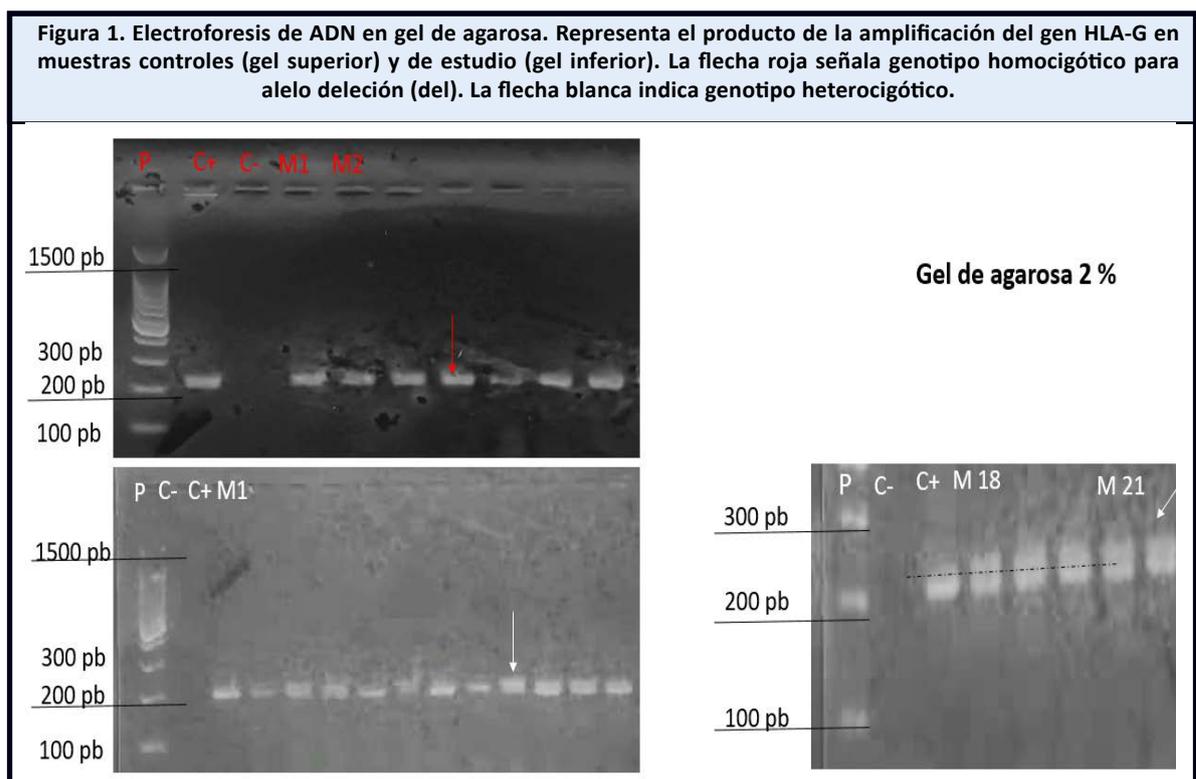
Criterios de inclusión: gestantes aparentemente sanas, entre 25 y 35 años.

Criterios de exclusión: gestantes con antecedentes de aborto espontáneos recurrentes.

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*).<sup>(10)</sup>

El polimorfismo HLA-G se genotipó a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en las condiciones subsiguientes: 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 se efectúa en 25 µL de volumen final: Tampón 10X 2,5 µL, dNTP 0.2 mM 0,5 µL, Taq ADN polimerasa 0,75U 1µL y 10 pmol de cada cebador (*directo* 5'-GTGATGGGCTGTTTAAAGTGTCACC-3' y *reverso* 5'-GGAAGGAATGCAGTTCAGCATGA-).<sup>(11)</sup>

Una vez obtenido el producto de amplificación, se llevó a cabo un análisis electroforético para identificar y aislar el fragmento deseado. Se empleó un gel de agarosa (UltraPure™ Agarose, invitrogen) a 3 % en tampón TAE 1X (Tris-Acetato-EDTA). 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 pb. Para poder observar las bandas en el gel, este se tiñó en Roti-GelStain Red que emite fluorescencia al ser sometido a radiación ultravioleta. (Figura 1)

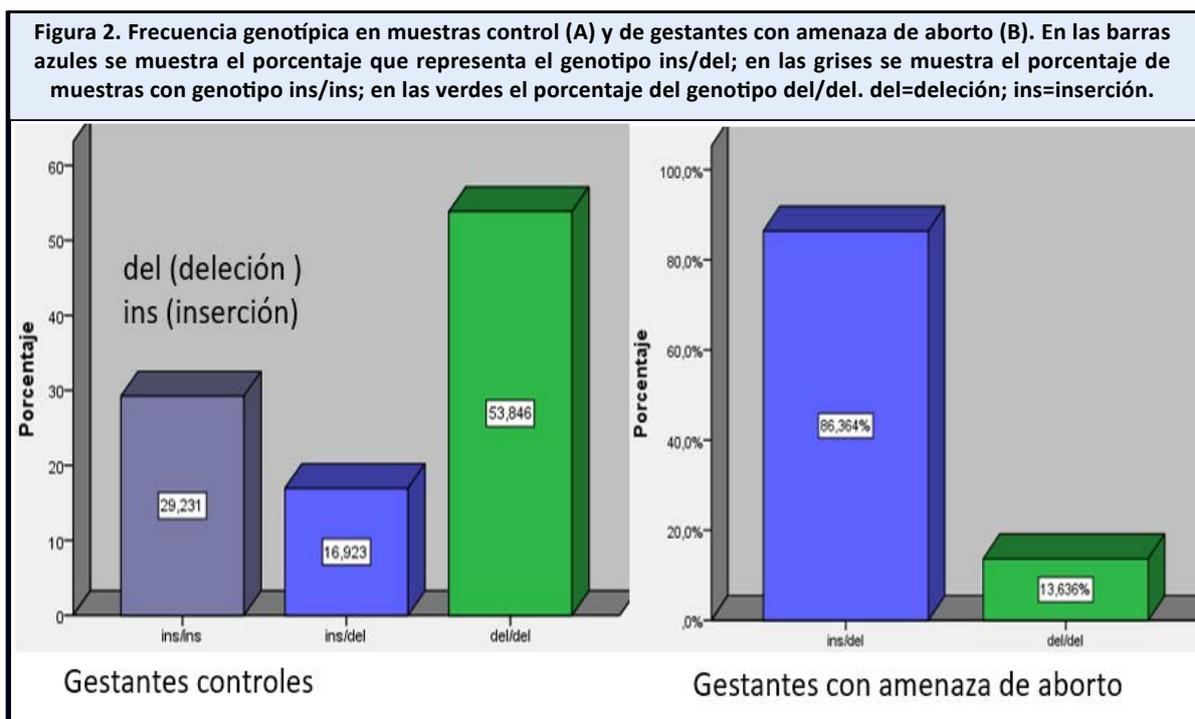


Para el procesamiento estadístico de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versión 21 para *Windows*. Se determinaron la media aritmética y la desviación estándar, así como la frecuencia relativa absolutas y los porcentajes para obtener las frecuencias alélicas y genotípicas. Se determinó el *Odds Ratio* (O.R) para determinar el nivel de asociación entre variables con un intervalo de confianza a 95 %. Los datos se resumieron en tablas y gráficos.

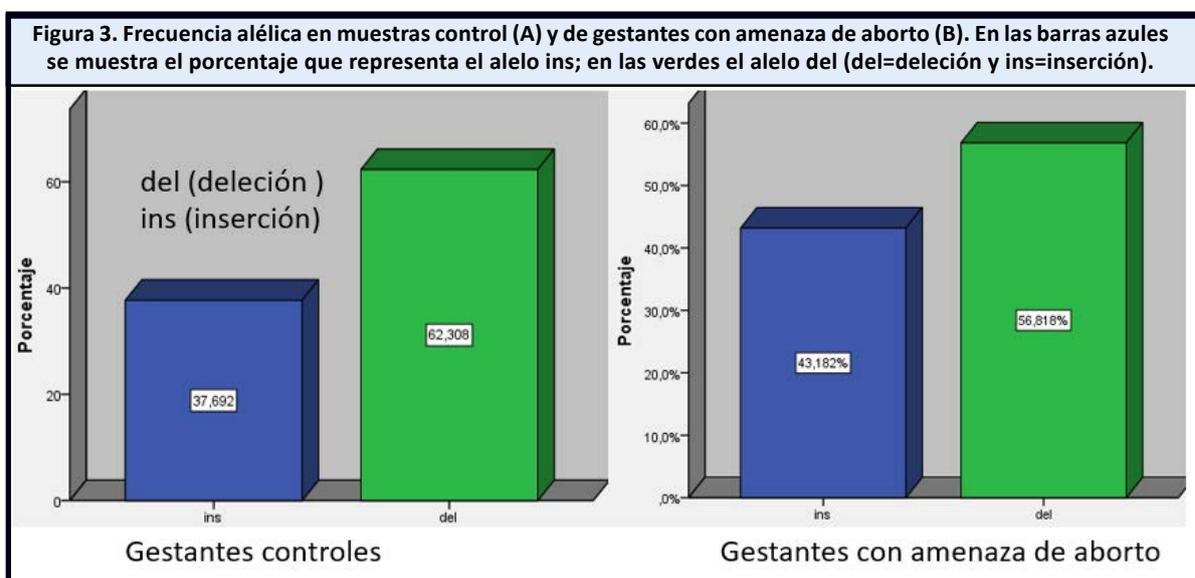
Se cumplió con lo postulado en la Declaración de Helsinki.<sup>(12)</sup> Las muestras empleadas se obtuvieron de individuos que dieron su consentimiento a participar en el estudio. Fueron respetados todos los derechos de los sujetos que participaron en la investigación. Los resultados obtenidos fueron empleados con fines científicos.

### RESULTADOS

Se determinó la frecuencia genotípica en ambos grupos de investigación. En el grupo control (Figura 2A) se muestra la presencia de casos con genotipo *ins/ins* que representan 29,2 %, genotipo ausente en el grupo de gestantes con amenaza de aborto. (Figura 2B). En este último grupo predominó el genotipo *ins/del* con 86,36 %. (Figura 2B).



En la Figura 3 se muestra la frecuencia alélica en muestras control (Figura 3A) y de gestantes con amenaza de aborto (Figura 3B). En ambos grupo el alelo *del* ocupó la mayor frecuencia. En el grupo control el alelo representa 62,3 %; mientras en las gestantes con amenaza de aborto el alelo representa 56,82 %, seguido por el alelo *ins* (43,18 %).



El riesgo de presentación de la amenaza de aborto en muestras de sujetos con genotipo del/del mostró un Odd Ratio de 0,135 con un IC entre 0,036 y 0,502. (Tabla 1).

Tabla 1. Riesgo de presentación de amenaza de aborto en muestras de sujetos con genotipo del/del			
Indicador	Valor	Intervalo de confianza (IC) a 95 %	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para Genotipo (del/del / otros)	0,135	,036	,502

El riesgo de presentación de la amenaza de aborto en muestras de sujetos con genotipo ins/del evidenció un Odd Ratio de 31,09 con un IC entre 07,82 y 123,52. (Tabla 2).

Tabla 2. Riesgo de presentación de amenaza de aborto en muestras de sujetos con genotipo ins/del			
Indicador	Valor	Intervalo de confianza (IC) a 95 %	
		Inferior	Superior
Razón de las ventajas para Genotipo (ins/del / otros)	31,09	7,82	123,52

## DISCUSIÓN

Los resultados demuestran que el genotipo HLA-G 14-pb ins/del constituyó un factor de riesgo para la amenaza de aborto, mientras que el genotipo HLA-G 14-pb del/del se comporta como un factor protector de esta afección.

Una posible explicación a estos resultados, puede ser el efecto de la inserción de 14-pb en la región 3' UTR del 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 podrían conducir a la amenaza de aborto y al aborto. El alelo HLA-G 14pb del en homocigosis se asocia con la estabilidad y expresión de la proteína HLA-G, situación que pudiera justificar su mayor representatividad en el grupo control de gestantes aparentemente sanas.<sup>(13)</sup>

Nilsson *et al.*,<sup>(4)</sup> en un estudio de cohorte prospectivo con 127 parejas infértiles encontraron una tendencia a la asociación del alelo de inserción HLA-G de 14-pb con una mayor frecuencia de aborto espontáneo en contraste con el alelo deleción de 14-pb. Los investigadores concluyen que la genética HLA de clase Ib masculina y femenina tienen relevancia clínica en la reproducción; datos a los cuales se ajusta el presente estudio. Se considera que se deben investigar los genes maternos y paternos, dado que en el embrión se expresan antígenos de ambos progenitores.

En este sentido, Monti *et al.*,<sup>(14)</sup> llevaron a cabo un metaanálisis que incluyó mujeres europeas con antecedentes de aborto recurrente. Estos autores investigaban la controvertida asociación entre el polimorfismo 14-pb (inserción/inserción, inserción/deleción, deleción/deleción) en el exón 8 del gen HLA-G y la pérdida de embarazo recurrente (PER). Informaron sobre el estudio que comprendía una muestra de 1091 mujeres con PER y 808 mujeres controles sin PER. Se evidenció que las mujeres con PER mostraron una prevalencia mayor del genotipo de inserción/inserción de 14-pb de HLA-G en comparación con las mujeres sin PER (19,8 % vs 14,1 %; odds ratio=1,562; Intervalo de confianza de 95 %, 1,203–2,027).<sup>(14)</sup>

Este resultado también se confirmó al estudiar por separado a las mujeres con PER durante un embarazo (*odds ratio*, 1 562; intervalo de confianza de 95 %, 1 203–2 027) y las que fueron sometidas a fertilización *in vitro* (FIV) (*odds ratio*, 1 990; intervalo de confianza de 95 %, 0,978-4,051).<sup>(14)</sup> Estos datos guardan relación, pero no están en total consonancia con los resultados del presente estudio. Es opinión de los autores que el genotipo de inserción/inserción de 14-pb de HLA-G debe ser considerado un factor de riesgo para la amenaza de aborto y de aborto.

Sipak *et al.*,<sup>(15)</sup> al estudiar el polimorfismo del gen HLA-G mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) encontraron con mayor frecuencia el alelo HLA-G 10101 c en el grupo de mujeres con embarazos complicados. Las diferencias no son significativas en las frecuencias del polimorfismo ins/del de 14-pb en la 3'UTR del gen HLA-G entre los grupos estudiados. Los hallazgos revelan el riesgo de complicaciones que se manifiestan en el embarazo, el cual está influenciado por los alelos HLA-G 10101, HLA-G 10108 y HLA-G 10106 y donde el polimorfismo ins/del de 14-pb en el 3'UTR del gen HLA-G no tiene efecto alguno en la aparición de complicaciones.

Consideramos que las discrepancias encontradas al comparar los resultados de este trabajo con los datos informados por Sipak *et al.*,<sup>(16)</sup> no se deben a la metodología empleada pues fue muy similar. Una posible explicación podría encontrarse en la selección de la población de estudio. Se conoce que individuos procedentes de continentes o poblaciones diferentes presentan variedad en la proporción y frecuencia de los polimorfismos del gen HLA-G.<sup>(3)</sup>

El genotipo heterocigoto para el polimorfismo inserción/delección de 14-pb en el 3'-UTR del gen HLA-G muestra una asociación con el aborto espontáneo y el aborto recurrente en comparación con los controles.<sup>(16)</sup> Estos datos se encuentran en concordancia con los obtenidos en el actual estudio. Del mismo modo, Enríquez de Salamanca (2018)<sup>(3)</sup> apunta que, el genotipo HLA-G 14pb del/ins se relaciona con trastornos y complicaciones en el embarazo.

Marik *et al.*,<sup>(17)</sup> al 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 encontraron que no existen diferencias estadísticas en las frecuencias del HLA-G-725 polimorfismo C>G entre grupos experimentales en comparación con el grupo de control ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, estos resultados no se corresponden con los encontrados en la presente investigación que identifica como alelo más frecuente al HLA-G-14-pb-del exón 8. A partir de los resultados de este trabajo se pudiera considerar que las discrepancias encontradas con lo informado por Enríquez de Salamanca no se deben a la metodología empleada sino a la selección de la población de estudio. Se conoce que individuos procedentes de continentes o poblaciones diferentes presentan variedad en la proporción y frecuencia de los polimorfismos del gen HLA-G.<sup>(7)</sup>

Bai *et al.*,<sup>(18)</sup> al estudiar la asociación entre el polimorfismo del gen HLA-G en las regiones 3' no traducidas (UTR) y el aborto espontáneo, informaron que el polimorfismo de un solo nucleótido puede diferir en mujeres con recurrencia inexplicable al aborto espontáneo. El estudio incluyó un total de 261 muestras de ADN, de ellas 50,95 % fueron de gestantes con aborto espontáneo, mientras que el resto se empleó como grupo control. El estudio proporcionó como resultado que los portadores del genotipo +3010CC exhibieron un mayor riesgo de aborto o amenaza de aborto que los portadores del genotipo +3187GG o alelo +3187G.

Sin embargo, estos resultados no coinciden con los obtenidos en este trabajo, en el cual el polimorfismo 14-pb ins/del en la región 3' no traducida (UTR) del exón 8 representó el genotipo más frecuente en las gestantes con amenaza de aborto y al mismo tiempo un factor de riesgo para esta condición. Las discrepancias entre ambas investigaciones pudieran estar relacionadas con el diseño metodológico empleado, ya que en uno se investiga un polimorfismo de nucleótido simple mientras que la investigación llevada a cabo por Bai *et al.*,<sup>(18)</sup> se centra en un polimorfismo de inserción/delección de un fragmento de ADN. Desde el punto de vista físico y biológico esto supone diferencias puntuales que explicarían la divergencia entre los resultados encontrados. Por otro lado, ambos trabajos coinciden en que los polimorfismos en la región 3'UTR pudieran estar involucrados en el desarrollo del aborto espontáneo recurrente y ser un predictor del resultado del embarazo.

El tamaño muestral del grupo de pacientes con amenaza de aborto y el muestreo no probabilístico aplicado en la investigación se señalan por los autores como las limitaciones más significativas; sin embargo, ambas condiciones estuvieron influenciadas por la escasez de material gastable y la casuística en el periodo.

## CONCLUSIONES

El polimorfismo inserción/delección de 14 pares de bases en el exón 8 de la región 3' no traducible del gen antígenos leucocíticos humanos G representan un factor de riesgo para la aparición de amenaza de aborto en gestantes de Camagüey, mientras que la expresión del genotipo delección/delección representa un factor protector frente a esta afección de salud.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Botelho SM. Avaliação das moléculas HLA-G e PD-L1 em gestantes submetidos a transplante renal em Goiânia-GO [Tesis]. Goiânia: Universidad Federal de Goiás; 2020 [Citado 25/07/2023]. Disponible en: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/11702/3/Tese%20-%20Silvia%20Mar%20c3%a7a%20Botelho%20-%202020.pdf>
2. Vaquero-Yuste C, Juárez I, Molina-Alejandre M, Molanes-López EM, López-Nares A, Suarez-Trujillo F, et al. HLA-G 3'UTR Polymorphisms Are Linked to Susceptibility and Survival in Spanish Gastric Adenocarcinoma Patients. *Front Immunol* [Internet]. 2021 [Citado 25/07/2023];12:698438. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8453083/>
3. Enríquez de Salamanca Carrascosa M. Estudio del polimorfismo del gen inmunosupresor HLA-G, en amerindios [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2018 [Citado 25/07/2023]. Disponible en: <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/6346db9b-417d-42ae-93c5-09ed5c8a2d77/content>
4. Nilsson LL, Scheike T, Langkilde CH, Jørgensen N, Hornstrup MB, Perin TL, et al. 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* [Internet]. 2020 Sep [Citado 25/07/2023];114(3):628-39. 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)
5. Emadi E, Akhouni F, Kalantar SM, Emadi-Baygi M. 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* [Internet]. 2020 Ago [Citado 25/07/2023];21:94. Disponible en: <https://bmcbgenomdata.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12863-020-00890-y>
6. Rouas-Freiss N, Moreau P, LeMaout J, Papp B, Tronik-Le Roux D, Carosella ED. Role of the HLA-G immune checkpoint molecule in pregnancy. *Hum Immunol* [Internet]. 2021 May [Citado 10/08/2023];82(5):353-61. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33745758/>

7. Merdas AH, Iqbal MN, Alyasiri NS. The Effects of HLA-G Gene Polymorphism and sHLA-G Level in Women with Threatened Abortion. *J Techniques* [Internet]. 2022 [Citado 10/08/2023];4(2):69-74. Disponible en: <https://journal.mtu.edu.ig/index.php/MTU/article/view/505>
8. Quirós Rodríguez Y, Arrieta García R, Prado Téllez NI, Pimentel Benítez HI, Amador Aguilar LM. Caracterización clínica epidemiológica de las defunciones fetales de causa genética en Camagüey. *Rev Cubana Med Gen Integr* [Internet]. 2022 Sep [Citado 29/11/2023];38(3):e1820. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252022000300005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252022000300005&lng=es). Epub 01-Sep-2022.
9. Lardoeyt Ferrer R. Fundamentos de genética médica poblacional [Internet]. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2016 [Citado 27/05/2024]. Disponible en: [www.ecimed.sld.cu/2016/11/17/fundamentos-de-genetica-medica-poblacional](http://www.ecimed.sld.cu/2016/11/17/fundamentos-de-genetica-medica-poblacional)
10. Promega. Isolation of Genomic DNA from Whole Blood [Internet]. USA: Promega Corporation; 2020 [Citado 10/08/2023]. Disponible en: <https://worldwide.promega.com/-/media/files/resources/protcards/wizard-genomic-dna-purification-kit-quick-protocol.pdf>
11. Rizzo R, Hviid TVF, Govoni M, Padovan M, Rubini M, Melchiorri L, et al. HLA-G genotype and HLA-G expression in systemic lupus erythematosus: HLA-G as a putative susceptibility gene in systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* [Internet]. 2008 [Citado 03/05/2024];71(6):520-9. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01037.x>
12. Manzini JL. Declaración de Helsinki: Principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos. Análisis de la 5ta reforma, aprobada por la Asamblea General de la Asociación Médica Mundial en octubre del año 2000, en Edimburgo, respecto del texto aprobado en Somerset West (Sudáfrica) en octubre de 1996. *Acta bioeth* [Internet]. 2000 Dic [Citado 10/08/2023];6(2). 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)
13. Krop J, Van Der Keur C, Kapsenberg JM, Den Hollander F, Van Der Hoorn MLP, Heidt S, et al. Soluble HLA-G blood levels are not increased during ongoing pregnancy in women with a history of recurrent pregnancy loss. *J Reprod Immunol* [Internet]. 2022 Sep [Citado 10/08/2023];153:103665. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165037822001942>
14. Monti M, Lupoli R, Fernández LMS, Cirillo F, Di Minno MND. Association of human leukocyte antigen-G 14 bp polymorphism with recurrent pregnancy loss in European countries: a meta-analysis of literature studies. *Fertil Steril* [Internet]. 2019 Sep [Citado 25/07/2023];112(3): 577-85. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31280950/>
15. Sipak O, Rył A, Grzywacz A, Laszczyńska M, Szymański S, Karakiewicz B, et al. Molecular Analysis of HLA-G in Women with High-Risk Pregnancy and Their Partners with Regard to Possible Complications. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2019 Mar [Citado 25/08/2023];16(6):982. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6466015/>
16. Sipak O, Rył A, Grzywacz A, Laszczyńska M, Zimny M, Karakiewicz B, et al. The Relationship between the HLA-G Polymorphism and sHLA-G Levels in Parental Pairs with High-Risk Pregnancy. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2019 May [Citado 10/08/2023];16(9):1546. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6539819/>
17. Marik B, Nomani K, Agarwal N, Dadhwal V, Sharma A. Role of the HLA-G regulatory region polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous abortions (RSA). *Am J Reprod Immunol* [Internet]. 2023 [Citado 10/08/2023];90(2):e13740. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37491923/>
18. Bai W, Lin Z, Ye J, Zhou L, Xi J, Cai W. Frequency of HLA-G UTR-1/UTR-3/UTR-7 in women with unexplained recurrent spontaneous abortion. *Exp Ther Med* [Internet]. 2022 [Citado 25/08/2023];24(6):1-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9634346/>

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

#### Contribución de autoría

Gerardo Brunet Bernal: conceptualización, curación de datos, análisis formal, investigación, metodología, administración del proyecto. supervisión, validación, visualización, redacción del original, revisión y edición.

Georgina Espinosa López: metodología, supervisión, validación, visualización, redacción del original, revisión.

Isabel Fabiola Pazos Santos: metodología, supervisión, redacción del original, revisión.

Amilcar Arenal Cruz: metodología, supervisión, redacción del original, revisión.

Grethel Camejo Sampedro: supervisión, validación, visualización, redacción del original.

Rogelio Puebla Alonso: análisis formal, investigación.

Todos los autores participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto.