



Asociación del polimorfismo genético del locus HLA-G y la susceptibilidad a contraer lupus eritematoso sistémico expresada en algunas manifestaciones clínicas

Association of the HLA-G locus genetic polymorphism and the susceptibility to contract systemic lupus erythematosus expressed in some clinical manifestations

Guerra-Monrroy Gabriela , Sosa-Tordoya Luis Fernando 

Datos del Artículo

Universidad Mayor de San Andrés.
Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.
Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud.
Avenida Saavedra 2224.
La Paz-Estado Plurinacional de Bolivia
Tel: +591 222-2436 222-4895

***Dirección de contacto:**
Universidad mayor de San Andrés.
Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.
Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud.
Avenida Saavedra 2224.
La Paz-Estado Plurinacional de Bolivia
Móvil: +591 70559199

Gabriela Guerra-Monrroy
E-mail address: gabamonrroy@gmail.com

Palabras clave:

Lupus eritematoso sistémico,
HLA-G,
polimorfismo,
autoinmunidad,
asociación genética,
complejo mayor de histocompatibilidad.

Resumen

La susceptibilidad individual en autoinmunidad puede estar determinada por una combinación de polimorfismos específicos de genes que codifican para múltiples proteínas, citoquinas, antígenos del complejo principal de histocompatibilidad, moléculas de adhesión, y proteínas celulares. Esta condición puede conducir a la expresión anormal de moléculas inmunoregulatoras y finalmente resultar en el desarrollo o exacerbación de la enfermedad autoinmune. HLA-G es una molécula glicoprotéica del MHC de clase I, la cual cumple con funciones muy importante al momento de activar y regular el sistema inmune. Por lo tanto, lo que se pretende con este estudio es determinar la asociación genética entre el polimorfismo de 14 pb del gen HLA-G con la susceptibilidad a contraer LES y las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

La población de estudio consistió de 120 pacientes con LES y 112 pacientes sin la enfermedad (grupo control), 94% procedía de la ciudad de La Paz, quienes asistieron al Instituto SELADIS. Para el estudio se obtuvo el DNA humano a partir de sangre periférica, se realizó la PCR para la tipificación molecular de los genotipos y alelos que fueron revelados por medio de electroforesis en gel de agarosa. Al mismo tiempo se realizaron pruebas serológicas por ELISA para determinar la presencia de anticuerpos IgG anti-DNA de doble cadena en los pacientes lúpicos. Los resultados de la PCR mostraron que los pacientes lúpicos tienen mayor frecuencia de expresión del genotipo Ins/Del (OR=1.72, p<0.05); mientras que, la presencia del genotipo homocigoto Ins/Ins es más frecuente en el grupo control (OR=0.29, p<0.001), mostrándose de esta forma que el primer genotipo es un factor de riesgo y el segundo, un factor de protección a padecer LES respectivamente. Se observó también que entre pacientes y controles no existe diferencia significativa en la frecuencia de presentación del genotipo Del/Del en homocigosis. En cuanto a las frecuencias alélicas se obtuvo que el alelo delección es más frecuente en el grupo de pacientes lúpicos, a comparación del grupo control donde ambos alelos presentaron el mismo porcentaje. Con respecto a las manifestaciones clínicas se observó que el polimorfismo Ins/Del (O.R=8.64) es factor de riesgo para el desarrollo de manifestaciones dermatológicas.

2020. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. Todos los derechos reservados.

Abstract

Autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus (SLE) are characterized by inflammation, as well as the progressive development of antibodies and T lymphocytes directed against self antigens. Although the etiology is still unknown, it is known that there is a strong genetic association between these diseases and some alleles and / or haplotypes of the major histocompatibility complex (MHC). Individual susceptibility in autoimmunity may be determined by a combination of gene-specific polymorphisms that code for multiple proteins, cytokines, adhesion molecules, among others, and that is why it is important to study them. HLA-G is an MHC class I glycoprotein molecule, which performs very important functions when activating and regulating the immune system. Therefore, what this study intends is to determine the genetic association between the 14 bp polymorphism of the HLA-G gene with the susceptibility to contract SLE and the clinical manifestations of the

J. Selva Andina Res. Soc.
2020; 11(2):62-74.

ID del artículo: 136/JSARS/2020

Historial del artículo.

Recibido marzo 2020.
Devuelto mayo 2020.
Aceptado junio 2020.
Disponible en línea, agosto 2020.



*Editado por:
Selva Andina
Research Society*

Keywords:

Systemic lupus erythematosus,
HLA-G,
polymorphism,
autoimmunity,
genetic association,
major histocompatibility complex.

disease.

The study population consisted of 120 patients with SLE and 112 patients without the disease. For the study, human DNA was obtained from peripheral blood, PCR was performed for molecular typing of the genotypes and alleles that were revealed by means of electrophoresis in agarose gel. At the same time, serological tests were carried out using the ELISA technique to determine the presence of double-chain anti-DNA IgG antibodies.

The PCR results showed that lupus patients have a higher frequency of expression of the Ins / Del genotype (OR = 1.72, $p < 0.05$); while, the presence of the homozygous Ins / Ins genotype is more frequent in the control group (OR = 0.29, $p < 0.001$), thus showing that the first genotype is a risk factor and the second, a protection factor to suffer SLE respectively. It was also observed that between patients and controls there is no significant difference in the frequency of presentation of the Del/Del genotype in homozygosity. Regarding allele frequencies, the deletion allele was found to be more frequent in the group of lupus patients, compared to the control group where both alleles presented the same percentage. Regarding the clinical manifestations, it was observed that the Ins/Del polymorphism (OR=8.64) is a risk factor for the development of dermatological manifestations.

2020. Journal of the Selva Andina Research Society®. Bolivia. All rights reserved.

Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES), una enfermedad autoinmune (EAI), inflamatoria de etiología desconocida, que órganos, tejidos y células se dañan por depósito de complejos inmunitarios y diversos autoanticuerpos dirigidos contra un amplio espectro de antígenos nucleares y citoplasmáticos, presentando múltiples manifestaciones clínicas y compromiso de uno o más órganos y sistemas, característicos de la enfermedad¹⁻³.

Una de las principales características del LES es la producción de autoanticuerpos contra autoantígenos y la formación de inmunocomplejos que median respuestas inflamatorias al depositarse en diversos órganos y tejidos⁴. Si bien la etiología no es del todo clara, se sabe qué factores genéticos y ambientales pueden estar implicados en la aparición de la gran diversidad de autoanticuerpos, que junto a la variabilidad de manifestaciones clínicas puede presentarse desde formas muy leves a graves, que incluso puede comprometer la vida del paciente^{5,6}.

Uno de los factores ambientales ligado al LES es la radiación ultravioleta, que provoca exacerbación en el 70% de los pacientes al incrementar la apoptosis de los queratinocitos y otras células, o alterar el

DNA, proteínas intracelulares de manera que se tornen antigénicas^{2,7,8}.

La gran heterogeneidad clínica, asociación de manifestaciones clínicas con los diferentes anticuerpos hacen pensar que LES puede ser dividido en diferentes subgrupos, con gran importancia en la patogénesis, terapia y pronóstico de la enfermedad. Sin embargo, la caracterización de los múltiples patrones de LES es compleja, principalmente cuando se analizan pequeños grupos de pacientes con alta heterogeneidad étnica⁹⁻¹¹.

Un estudio realizado en mujeres afroamericanas señalan asociaciones fuertes entre factores genéticos con LES, las variantes ubicadas en el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3), que contiene cientos de genes, muchos de ellos con funciones inmunes. Antes del advenimiento de los estudios de asociación del genoma completo (GWAS), se reveló que tipos serológicos de genes del antígeno leucocitario humano (HLA) estaban asociados con el riesgo de LES. En particular, el HLA clase II HLA-DRB1*1501 y HLA-DRB*0301, se ha reportado consistentemente que los alelos están asociados con

el riesgo de LES en poblaciones de ascendencia europea y estos alelos confieren un número, de hasta tres veces en el riesgo de LES¹².

El Grupo Latinoamericano de Estudio del Lupus Eritematoso (GLADEL) realizó el estudio de ligamiento genómico en LES, entre ellos un meta análisis identificó tres regiones cromosómicas que muestran la evidencia más consistente de vinculación: 6p21.1-q15, 20p11-q13.13 y 16p13-q12.2¹³⁻¹⁶.

El gen HLA-G pertenece a la familia de moléculas de histocompatibilidad no clásicas localizada en el cromosoma 6 (6p21.3)^{17,18}. La secuencia y el gen HLA-G tienen gran similitud con los genes HLA clase I clásicos, tiene 8 exones, 7 intrones, excepto por un codón de parada en el exón 6 que difiere de los otros. A lo largo de su estudio, se pudo evidenciar que la función de la molécula HLA-G es inducir la tolerancia sobre las respuesta celular innata y adaptativa, como ejemplo, en la inducción de citoquinas, es capaz de inhibir la actividad de las células NK y disminuir los linfocitos T citotóxicos durante la respuesta de proliferación de células T en la reacción primaria alogénica, lo que sugiere un rol fisiopatológico de dicha molécula HLA en enfermedades inflamatorias, autoinmunes, enfermedades virales, tumores y trasplantes¹⁹⁻²³.

El gen del HLA-G adopta siete formas proteicas o isoformas, que son el resultado del empalme alternativo del ARN mensajero (ARNm) de HLA-G, cuatro corresponden a moléculas que se expresan sobre la membrana celular (HLA-G1, G2, G3 y G4) y tres moléculas solubles (HLA-G5, G6 y G7)^{19,20,24,25}.

En contraste con el extensivo polimorfismo de los genes clase I clásicos del HLA (locus HLA-A, B y C), se ha considerado bajo el grado de polimorfismo en el locus HLA-G, presentando una limitada heterogeneidad de secuencias y con pocos alelos descritos, 61 alelos hasta la fecha^{17,21,22}.

La proteína HLA-G unida a membrana, se expresa selectivamente en las células del trofoblasto extraveloso de la placenta, las células endoteliales fetales, los macrófagos de la mesénquima de las vellosidades coriónicas y las células epiteliales de la médula del timo^{18,19,22,26}. Sin embargo, se han detectado niveles bajos de transcripción de los genes HLA-G en algunas células de tejidos adultos, como linfocitos T y B. Por otra parte, se ha observado expresión de ARNm del HLA-G en sitios como la región anterior del ojo, la piel, los pulmones, en células renales, ovario, colon e intestino^{20,25,27}.

El HLA-G también presenta polimorfismos en los intrones, la región promotora y la región no traducida (3'UTR). Este último consiste en la inserción/delección (Ins/Del) de 14 pares de bases (pb) que está presente en el exón 8²⁸. Este polimorfismo Ins/Del se ha asociado con la inestabilidad del ARNm de HLA-G y niveles más bajos de HLA-G soluble (sHLA-G) en suero de sujetos sanos. Dicho polimorfismo está siendo bastante estudiado en enfermedades inflamatorias especialmente en el LES y la artritis reumatoide (AR)^{24,25,28,29}.

Autores como Consiglio et al.²⁴, Rizzo et al.¹⁹, Wu et al.²⁸, Cavalcanti et al.²⁰, realizaron estudios similares en distintas poblaciones, determinaron que si existía asociación genética entre el polimorfismo Ins/Del y el riesgo a padecer LES, reflejando distintos resultados según la región étnica. En Bolivia no se ha realizado un estudio similar para evaluar el potencial que tiene este gen en la predicción del riesgo de la enfermedad o en la predicción de las consecuencias orgánicas que la enfermedad puede producir en los pacientes bolivianos.

Los datos del presente estudio brindaran un aporte significativo, los hallazgos reportados podrán aportar a la medicina predictiva en pacientes con riesgo a padecer la enfermedad o que ya la padecen.

Dado el impacto socio económico que tiene esta enfermedad y con el fin de contribuir en el campo de la medicina preventiva y personalizada el presente trabajo plantea como objetivo determinar en qué medida, el polimorfismo Ins/Del de 14 pb existente en el exón 8 del gen HLA-G está asociado al riesgo de padecer LES y/o a sus alguna de sus manifestaciones clínicas en una población de pacientes bolivianos que asistieron al Instituto SELADIS durante los años 2015 y 2016.

Materiales y métodos

Este trabajo de investigación corresponde a un estudio caso control, realizado durante los meses de enero del 2015 hasta abril del 2016 en el Laboratorio de Histocompatibilidad e Inmonogenética (LHI) del Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud (SELADIS). Se trabajó con 232 pacientes, se los dividió en dos grupos, los que corresponde a pacientes lúpicos (PL) (120) y grupo control (GC) (112), todos fueron aceptados bajo los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión. Personas de cualquier género, mayores de edad que cumplan al menos con cuatro de los once criterios para el diagnóstico de LES establecidos por el Colegio Americano de Reumatología (CAR)³⁰, que tengan confirmada la enfermedad mediante la clínica y laboratorio³¹. En caso de los 2 pacientes menores de 18 años (12 y 16 años respectivamente se solicitó el consentimiento de su padre, madre, tutor o apoderado para incorporarlo al estudio.

Criterios de exclusión. Aquellos pacientes que presentaron otras patologías de tipo autoinmune además de LES. Se excluyó del estudio a todas las personas

cuyos médicos tratantes no estuvieron de acuerdo, que sus pacientes participen del estudio. También se excluyó del estudio, a todos los familiares de los PL debido a que este no es un estudio de análisis de ligamiento genético mediante la segregación familiar.

Criterios de eliminación. Se excluyó del estudio a los pacientes que después de haber sido involucrados en el estudio decidan no ser parte, los datos obtenidos tampoco fueron tomados en cuenta en el análisis final de resultados. Pacientes que después de haber aceptado su participación no asistieron a la toma de muestra.

Grupo control

Criterios de inclusión. Pacientes de cualquier edad y sexo a quienes se descartó la presencia de LES u otras enfermedades autoinmunes y quienes firmaron el consentimiento informado.

Criterios de exclusión. A personas que presentaron antecedentes familiares de enfermedades autoinmunes. Todos los participantes fueron informados verbalmente como de forma escrita sobre el estudio, habiendo firmado un consentimiento informado.

Los 120 PL presentaron un promedio de edad de 37 años (rango años y una proporción mujer/varón de 16:1 que asistieron al Instituto SELADIS de la ciudad de La Paz. Todos los pacientes incluidos en el estudio cumplieron con al menos 4 de los 11 criterios de clasificación incluyendo tres criterios clínicos y un criterio inmunológico, propuestos por CAR para pacientes con LES^{30,32}, se les realizó una historia clínica (HC) con el fin de aplicar los criterios de inclusión y exclusión, también se recopilaron datos sobre las manifestaciones clínicas que cursaron a partir del inicio de su enfermedad. A todos los pacientes se les realizó la prueba para determinar anticuerpos anti-ADN doble cadena, que se analizaron por la técnica inmunoenzimática (ELISA)³⁰.

A todos los pacientes con LES se les realizó la genotipificación para el polimorfismo Ins/Del de 14 pb localizado en el exón 8 del gen HLA-G²⁴.

Los 112 voluntarios del grupo control que participaron del estudio fueron de nacionalidad boliviana 95.5% eran procedentes de la ciudad de La Paz, con un promedio de edad de 28 años, de la misma forma se les realizó la genotipificación para el polimorfismo de 14 pb del gen HLA-G²⁴.

Extracción de ADN genómico. El ADN genómico se extrajo de muestras de sangre periférica mediante el kit comercial (FAVORGEN Biotech Corp USA) el cual utiliza columnas con membrana de sílica en presencia de sales caotrópicas³³.

Luego se realizó la cuantificación del ADN obtenido por medio de espectrometría UV, que permitió obtener una concentración de ADN en un rango de 50 a 200 ng/ μ L y una pureza de ADN entre 1.5 y 1.8, lo que determinó el rendimiento y la pureza³⁴.

Genotipificación del polimorfismo de 14 pb en el exón 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 min¹⁹.

La preparación de master Mix fue realizada en 25 μ L de volumen final: Buffer 1X, dNTP 0.2 mM, MgCl₂ 1.5 mM, Taq ADN polimerasa 0.75 U y 10 pmol de cada primers (forward 5'-GTGATGGGCTGTTTAAAGTGTCACC-3' y reverse 5'-GGAAGGAATGCAGTTCAGCATGA-3'¹⁹).

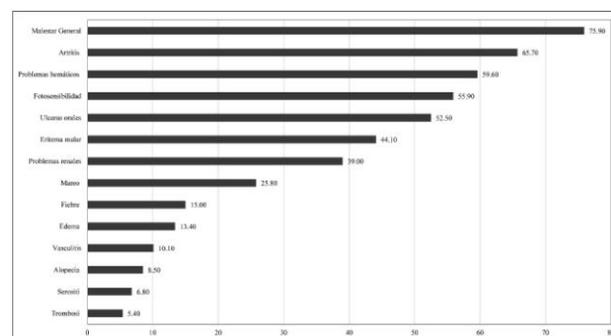
Una vez obtenido y amplificado el material genético se procedió al revelado de las bandas de ADN para lo que se realizó la electroforesis en gel de agarosa al 5% utilizando como diluyente el tampón TBE al 1X (Tris, Ácido Bórico y EDTA) para 150

mL y el intercalante de ácidos nucleicos SYBR Green 7uL al 10.000X³⁵.

Análisis estadísticos. Se utilizó el paquete estadístico SSPS 22.0 Versión de prueba, se pudo obtener todas las frecuencias alélicas y genotípicas. Para el grado de asociación se utilizó el Odd Ratio (O.R) y el chi-cuadrado utilizando un intervalo de confianza del 95 %³⁶.

A partir de los datos obtenidos de la PCR se asignó los alelos y genotipos del gen HLA-G que presentaron los dos grupos estudiados. En el estudio también se identificó los signos y síntomas que reportan con mayor frecuencia los pacientes en el transcurso de su enfermedad con el fin de establecer la existencia de una posible asociación entre las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo del HLA-G con las manifestaciones clínicas reportadas, figura 1 signos y síntomas más reportados.

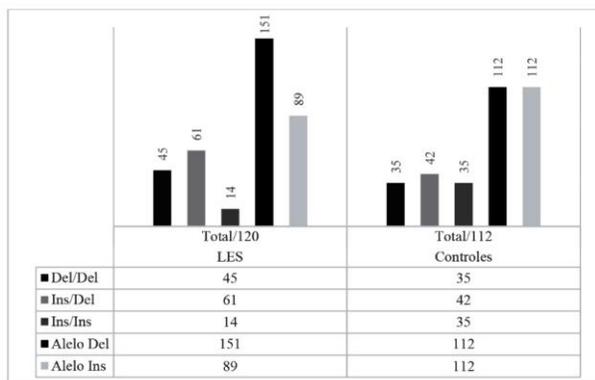
Figura 1 Signos y síntomas más frecuentes reportados por los pacientes en el transcurso de su Enfermedad



Los signos y síntomas más frecuentemente reportados por los pacientes en el transcurso de su enfermedad fueron: malestar general (75.9%), artritis (65.7%), problemas hemáticos (59.6%), úlceras orales (52.5%), eritema malar (44.1%) y problemas renales (39%). En una mayoría de los casos la afección inicial fue multisistémica (más de un signo o síntoma clínico a la vez), lo que dificultó su diagnóstico inicial.

Resultados

Figura 2 Frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas para la asociación del polimorfismo del Locus HLA-G en pacientes



A partir de las frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas de los dos grupos muestrales estudiados se pudo realizar el análisis de la asociación genética por cada alelo del gen estudiado. El análisis por PCR, se puede apreciar (figura 2) que los PL tienen mayor frecuencia de expresión del genotipo Ins/Del ya que 61 de 120 pacientes (50.8%) lo presentaron,

al igual que el alelo Del, observándose su elevado aumento. Mientras que, en el caso de los controles, si bien, existe mayor número de casos con el genotipo Ins/Del (37.55%), no se observa un valor significativo. Se observó también, que entre pacientes y controles no existe diferencia significativa en la frecuencia de presentación del genotipo Del/Del en homocigosis.

Tablas 1 Odds Ratio (O.R), intervalos de confianza y Chi cuadrado (X²) obtenidas para la asociación del polimorfismo del Locus HLA-G entre pacientes –controles y la posible susceptibilidad a LES

Polimorfismo HLA-G	O.R (IC)	Chi cuadrado	
		Valor	Valor-p
Del/Del	1.32 (0.77 – 2.27)	1	0.31691
Ins/Del	1.72 (1.02 – 2.91)	4.17	0.0411
Ins/Ins	0.29 (0.15 – 0.58)	13.34	0.00026
Alelo Del	1.17 (1.17 – 2.46)	7.87	0.00502
Alelo Ins	0.59 (0.41 – 0.85)	7.87	0.0502

En cuanto a las frecuencias alélicas, se puede evidenciar que el alelo de Del es más frecuente en el grupo de los PL (62.9%) a comparación del GC, en el que ambos alelos se presentaron en el mismo porcentaje (50%).

Tabla 2 Asociación de las frecuencias genotípicas del polimorfismo HLA-G de pacientes lúpicos con las manifestaciones clínicas reportadas en el transcurso de su enfermedad

Manifestaciones clínicas	Polimorfismo HLA-G	Alelo Presente		Chi-cuadrado					
		Clinica presente	Clinica ausente	Odds Ratio	I.C. 95% bajo	I.C. 95% alto	Valor	Valor-p	
Renales	Del/Del	12	30	2.22	0.88	5.61	2.91	0.0880	
	Ins/Del	8	48	0.48	0.18	1.24	2.37	0.1236	
	Ins/Ins	3	23	0.90	0.23	3.47	0.02	0.8782	
Dermatológicas	Del/Del	8	38	0.25	0.10	0.60	10.1	0.0014	
	Ins/Del	29	16	8.64	3.68	20.3	24.4	0.0000	
	Ins/Ins	5	24	0.30	0.11	0.87	5.30	0.0213	
Hematológicas	Del/Del	18	25	2.75	1.21	6.22	6.04	0.0140	
	Ins/Del	12	46	0.43	0.19	0.98	4.38	0.0364	
	Ins/Ins	4	15	0.63	0.19	2.06	0.59	0.4427	
Cardiopulmonares	Del/Del	5	47	0.93	0.28	3.11	0.02	0.9023	
	Ins/Del	4	36	1.00	0.28	3.54	0.00	1.0000	
	Ins/Ins	3	28	0.99	0.25	3.91	0.00	0.9862	

En la tabla 1 se destaca que existen datos significativos con respecto al polimorfismo heterocigoto Ins/Del que presenta una asociación significativa de riesgo a LES con un valor de razón de probabilidades (O.R) de 1.32 ($p=0.04$) a diferencia del polimorfismo Ins/Ins que representa una asociación de protección a LES con un O.R de 0.29 ($p=0.005$).

Por lo que respecta al alelo Del, este presenta una asociación significativa de riesgo a LES con un O.R de 1.70 ($p=0.005$) a diferencia del alelo Ins que presenta una asociación significativa de protección a LES con un O.R de 0.59 ($p=0.005$).

Por otra parte, en el estudio se buscó establecer la existencia una posible asociación entre las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo del HLA-G con las manifestaciones clínicas reportadas por los PL, los resultados de este análisis se pueden observar en la tabla 2. Se resalta al *polimorfismo Ins/Del* como un factor de riesgo para las *manifestaciones dermatológicas*, ya que este presenta un O.R de 8.64 ($p=0.001$), contrariamente se observa que los *polimorfismos Del/Del e Ins/Ins* son factores de protección para los PL por el valor de sus O.R de 0.25 y 0.30 respectivamente.

Las *manifestaciones hematológicas* asocian al *polimorfismo Del/Del* como factor de riesgo, ya que presenta un valor de O.R de 2.75 y el *polimorfismo Del/Ins* vendría a ser un factor de protección con un O.R de 0.43.

Discusión

El LES es una enfermedad de etiología muy compleja en la que los factores genéticos son parte de la etiopatogenia, siendo confirmado por estudios genéticos de alta complejidad como el análisis GWAS¹² del que ya se habló anteriormente, al igual de los estudios de agregación familiar, la asociación

genética se ve reflejada en un meta-análisis, donde se evidenció que las enfermedades autoinmunes prevalecen en las familias siendo las más importantes la agregación de la enfermedad tiroidea autoinmune seguida por el LES y la AR^{13,37}.

La frecuencia del LES está en aumento, fundamentalmente porque se detectan cada vez más casos de esta enfermedad. Las tasas de incidencia y prevalencia difieren dependiendo de la raza y el país o área geográfica⁴. La prevalencia en la población general, en dependencia de la zona, se encuentra entre 4 y 250 casos por cada 100000 habitantes: en Norteamérica, Asia y en el Norte de Europa afecta a 40 de cada 100000 habitantes, con una mayor incidencia entre la población hispana y afroamericana⁴. En Bolivia, el Ministerio de Salud no cuenta con datos relacionados y oficiales acerca de la prevalencia o incidencia de la enfermedad. Datos extra oficiales como los reportados por el LHI del Instituto SELADIS, reportan que en el departamento de La Paz se confirman un promedio anual de 130 nuevos casos de lupus, y el 90% de enfermos son mujeres en edad fértil³⁸.

Al igual que en su complejidad genéticas, el LES también presenta gran heterogeneidad con respecto a las manifestaciones clínicas y presencia de auto anticuerpos. Este hecho implica la necesidad del análisis de los factores genéticos que determinan la expresión de la enfermedad en diferentes grupos, con el fin de obtener resultados más concretos que logren proporcionar el diagnóstico de la enfermedad en aquellos casos en los que la clínica y la serología no son suficientes^{5,39}.

Los resultados del presente estudio reflejan que los PL tenían mayor expresión del genotipo Ins/Del (heterocigosis) (50.8%), a diferencia del GC, evidenciándose que los genotipos homocigotos Ins/Ins (31.25%) y Del/Del (31.25%) eran los más frecuentes. En cuanto al polimorfismo a nivel de alelo, se

pudo destacar entre los PL, que el *alelo deleción* es más frecuente que el alelo de Ins, mientras que el GC, ambos alelos se expresaron en la misma frecuencia. Observándose una asociación entre el *polimorfismo heterocigoto Ins/Del* presenta una asociación significativa de riesgo a LES en nuestra población estudiada con un *O.R de 1.32*, al igual que el *alelo de deleción*, que se muestra como alelo de riesgo con un *O.R de 1.70*, a diferencia del *alelo Inserción* que presenta una asociación significativa de protección a LES con un *OR de 0.59*.

Un estudio realizado por Consiglio et al.²⁴ en población brasileña, observó que luego que estudiar 195 PL frente a 122 individuos aparentemente sanos, se evidencio un exceso de heterocigosis (Ins/Del) de 53.9% en PL a diferencia del GC que presentaba un 50% de heterocigosis. Sin señalar ningún resultado estadísticamente significativo con respecto a los genotipos, sin embargo, estos autores observaron un ligero aumento del alelo Ins en PL frente al GC. Al igual que el trabajo realizado por Wu et al.²⁸ que describió una falta de asociación entre el polimorfismo Ins/Del de 14 pb en la región no traducida 3'UTR del gen HLA-G en LES en pacientes chinos. Los resultados de estos estudios nos hacen pensar que los pacientes que en su genotipo portan el alelo Ins tienen niveles bajos de HLA-G, lo cual afectan a las funciones reguladoras de esta proteína sobre ciertas células del sistema inmune, como ser: la inhibición de la actividad citotóxica de los linfocitos T y NK, la inducción de la apoptosis de las células T CD8 activadas y NK, lo cual, al desencadenarse la enfermedad por medio de un factor ambiental y verse el sistema inmune comprometido este no puede ser regulado de forma adecuada. De esta manera podría explicarse la asociación entre la presencia del alelo Ins/Del^{3,40}.

Después de evaluar el papel del polimorfismo en la región 3'UTR del HLA-G con susceptibilidad a LES, se evaluó, si alguno de los genotipos y/o alelos se asocia como factor de riesgo a manifestaciones clínicas observadas en los pacientes que participaron en el estudio. Los pacientes se estratificaron según presentaron o no un determinado parámetro clínico, esto con el fin de encontrar alguna asociación genética que nos brinden información acerca de las complicaciones clínicas que puedan presentarse en los pacientes.

Se puede describir el inicio característico de la enfermedad con astenia, artralgias, eritema malar, síndrome febril variable, pérdida de peso, malestar general, cefalea y otras manifestaciones potenciales, como dolor pleurítico, dolor abdominal, nefritis lúpica, sobre todo en mujeres jóvenes¹.

En la figura 1 se observa que los signos y síntomas más frecuentemente reportados por los pacientes en el transcurso de su enfermedad fueron: malestar general (75.9%), artritis (65.7%), problemas hemáticos (59.6%), úlceras orales (52.5%), eritema malar (44.1%) y problemas renales (39%). En una mayoría de los casos la afección inicial fue multisistémica (más de un signo o síntoma clínico a la vez), lo que dificultó su diagnóstico inicial.

En un grupo de 1000 pacientes europeos las principales manifestaciones clínicas al inicio y durante la evolución de la enfermedad fueron: eritema malar, lesiones discoides, lesiones cutáneas subagudas, fotosensibilidad, aftas orales, artritis, serositis y problemas renales^{5,41}.

Los resultados del presente estudio manifestaron que los principales factores de riesgo a padecer manifestaciones hematológicas en los PL son el genotipo Del/Del. Haciendo una comparación con literatura internacional, los datos se correlacionan con los hallazgos hechos por Rizzo et al.¹⁹, quien también

reportó que los pacientes homocigotos para el alelo deleción reportaron de manera frecuente afección hematológica y presentaron niveles plasmáticos más bajos de sHLA-G en comparación con los pacientes que no presentaron afección hematológica.

Dado que las principales manifestaciones hematológicas se deben a anticuerpos anti-plaquetarios y anti-eritrocitarios, y que el HLA-G muestra un efecto inhibitorio sobre los linfocitos B, se cree que la baja concentración de sHLA-G en pacientes con síntomas hematológicos favorece la producción de autoanticuerpos, lo cual predispone a sufrir manifestaciones hematológicas en pacientes con LES^{16,42}.

Con respecto a las manifestaciones dermatológicas en el presente estudio se asocia que el genotipo heterocigoto Ins/Del representa un factor de riesgo, en general este grupo de pacientes reportaron presentar signos de eritema malar y foto sensibilidad al inicio del estudio⁴¹.

En el estudio realizado por Cavalcanti et al.²⁰, en pacientes brasileños que se les diagnosticó LES en la infancia, evidenciaron que el alelo de Del y el genotipo Del/Del muestran asociación con nefritis lúpica.

En el presente estudio, lo que se evidenció en los resultados, fue que el alelo Ins se presenta como factor de protección para las manifestaciones renal.

En conclusión, se establece la asociación genética en la población en estudio (dado el mestizaje) y en población paceña en particular el polimorfismo Ins/Del de un fragmento de 14 pb en la región 3'UTR del gen que codifica para la proteína HLA-G, es un factor de riesgo genético a padecer LES y a tener un riesgo mayor de sufrir afecciones de algunas de sus manifestaciones clínicas como ser las dermatológicas y hematológicas cuando el paciente presente los genotipos Ins/Del y Del/Del respectivamente.

Por lo tanto, se recomienda seguir realizando estudios en el campo de la inmunogenética que permitan la búsqueda de genes con elevados valores de factor predisponente de riesgo (Odds ratio, riesgo relativo, etc.) y permitan predecir el riesgo a padecer LES o que con un alto nivel de confianza predigan que órgano o sistema en el paciente va a ser afectado producto de la enfermedad.

Fuente de financiamiento

El presente estudio fue financiado con recursos provenientes del Impuesto Directo a los Hidrocarburos (IDH) gestión 2010-2011 de la Universidad Mayor de San Andrés, como parte del proyecto concursable “Determinación de la asociación genética de los polimorfismos del gen que codifican la enzima convertidora de angiotensina, los loci HLA-DR y HLA-DQ con la susceptibilidad a Lupus Eritematoso Sistémico”

Conflictos de intereses

Los autores expresan que no existen conflictos de intereses con respecto a la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

Agradecimientos

Primeramente, agradezco a mi asesor de tesis al Dr. Luis Fernando Sosa Tordoya por brindarme todo su conocimiento científico y darme la oportunidad de ser parte del proyecto. Mi agradecimiento también va dirigido a la Asociación Boliviana contra el Lupus (ASBOLUP), ya que sin su colaboración este trabajo no se habría realizado.

Aspectos éticos

El presente trabajo fue evaluado por el comité de ética de investigación de la Universidad Mayor de San Andrés bajo normativa internacional en ética de la investigación (Pautas CIOMS/OMS, Helsinki/AMM) en la que se incluyen los criterios éticos que se deben tomar en cuenta para investigaciones que involucren seres humanos.

Todos los participantes de este trabajo autorizaron y firmaron un consentimiento informado.

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para en esta investigación no realizaron experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Literatura citada

- Mejía Salas H, Mendoza Amatller A. Lupus eritematoso sistémico. Rev Bol Ped 2004;43(1): 44-5.
- Enriquez Mejia M. Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico. Revista de Medicina e Investigación 2013;1(1):8-16.
- Anaya JM, Tobón GJ, Pineda Tamayo R, Fond J, Cervera R. Lupus eritematoso sistémico. En: Anaya JM, Shoenfeld Y, Correa PA, García Carrasco M, Cervera R, editores. Autoinmunidad y Enfermedad Autoinmune. Cooperación para Investigaciones Biológicas; 2005. p. 255-73. Recuperado a partir de: https://www.academia.edu/36483902/Autoinmunidad_y_Enfermedad_Autoinmune
- Bermúdez Marrero WM, Vizcaino Luna Y, Bermúdez Marrero WA. Lupus eritematoso sistémico. Rev Méd Cent Hosp [Internet].2017 [citado 5 de octubre de 2019];11(1):82-95. Recuperado a partir de: http://www.revacta_medica-centro.sld.cu/index.php/amc/article/view/795/981
- Gómez Puerta JA, Cervera R. Lupus eritematoso sistémico. Medicina & Laboratorio [Internet]. 2008 [citado 5 de octubre de 2019];14(5-6):211-23. Recuperado a partir de: <https://www.medigrafix.com/pdfs/medlab/myl-2008/myl085-6b.pdf>
- Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. N Engl J Med 2011;365:2110-21. DOI: <http://doi.org/10.1056/NEJMra1100359>
- Navarrete CL, Ibañez C. Rol de la apoptosis en la fisiopatología del lupus. Rev Chil Reumatol 2008;24(1):30-8.
- Kamen DL. Environmental influences on systemic lupus erythematosus expression. Rheum Dis Clin North Am 2014;40(3):401-12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2014.05.003>
- Tsokos GC, Lo MS, Costa Reis P, Sullivan KE. New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. Nat Rev Rheumatol 2016;12(12):716-30. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2016.186>
- Severiche Maury DM, Restrepo Escobar M, González Naranjo LA, Vanegas García AL, Muñoz Vahos CH, Vázquez Duque GM. Ciento quince pacientes con lupus eritematoso sistémico: características clínicas e inmunológicas. Rev Colomb Reumatol 2014;21(4):183-92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2014.10.002>

11. Agmon Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014;73(1):17-23. DOI: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-203863>
12. Ruiz Narvaez EA, Fraser PA, Palmer JR, Cupples LA, Reich D, Wang Y, et al. MHC region and risk of systemic lupus erythematosus in African-American women. *Hum Genet* 2011;130(6):807-15. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00439-011-1045-2>
13. Alarcón Segovia D, Alarcón Riquelme ME, Cardiel MH, Caeiro F, Massardo L, Villa AR, et al. Familial aggregation of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and other autoimmune diseases in 1.177 lupus patients from the GLADEL cohort. *Arthritis Rheum* 2005;52(4):1138-47. DOI: <https://doi.org/10.1002/art.20999>
14. Arrazola García MA. Tipificación de los alelos HLA clases I y II. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2005;43 (Supl 1):S95-97.
15. Vega Robledo GB. Complejo mayor de histocompatibilidad. *Rev Fac Med UNAM [Internet]*. 2009 [citado 5 de octubre de 2019];52(2):86-9. Recuperado a partir de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2009/un092j.pdf>
16. Costa Reis P, Sullivan KE. Genetics and epigenetics of systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep* 2013;15(9):369. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11926-013-0369-4>
17. Alfonso Valdes ME. HLA-G: ¿molecula inductora de inmunotolerancia?. *Rev Cuba Hematol Inmunol Hemoter* 2009;25:8-17.
18. Rincon V, Manrique E. HLA-G: Su importancia inmunologica. *Nova* 2006;4(5):91-9. DOI: <https://doi.org/10.22490/24629448.352>
19. Rizzo R, Hviid TV, 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* 2008;71(6):520-9. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01037.x>
20. Cavalcanti A, Almeida R, Mesquita Z, Duarte ALBL, Donadi EA, Lucena Silva N. Gene polymorphism and HLA-G expression in patients with childhood-onset systemic lupus erythematosus: A pilot study. *HLA* 2017;90(4): 217-27. DOI: <https://doi.org/10.1111/tan.13084>
21. Feroni I, Couto AR, Bettencourt BF, Santos M, Lima M, Bruges Armas J. HLA-E, HLA-F and HLA-G - The non-classical side of the MHC cluster. In: Feroni I, Couto AR, Bettencourt BF, Santos M, Lima M, Bruges Armas J, editors. *HLA and Associated Important Diseases*. IntechOpen; 2014. p. 61-109. Recuperado a partir de: <https://pdfs.semanticscholar.org/6ea6/66beadf28a113de62756482af197d5c5f41a.pdf>
22. Nomenclature for Factors of the HLA System [Internet]. Nomenclature. 1987 [citado 5 de enero de 2018]. Recuperado a partir de: <http://hla.alleles.org/nomenclature/index.html>
23. Dias FC, Castelli EC, Collares CV, Moreau P, Donadi EA. The role of hla-g molecule and hla-g gene polymorphisms in tumors, viral hepatitis, and parasitic diseases. *Front Immunol* 2015;6:9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00009>
24. Consiglio CR, Veit TD, Monticielo OA, Mucenic T, Xavier RM, Brenol JCT, et al. Association of the HLA-G gene +3142C>G polymorphism with systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens*

- 2011;77(6):540-5. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2011.01635.x>
25. Veit TD, Chies JA. Tolerance versus immune response-microRNAs as important elements in the regulation of the HLA-G gene expression. *Transpl Immunol* 2009;20(4):229-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trim.2008.11.001>
26. Grange C, Camussi G. Immunosuppressive role of extracellular vesicles: HLA-G, an important player. *Ann Transl Med* 2017;5(10):223. DOI: <https://doi.org/10.21037/atm.2017.03.61>
27. Rousseau P, Le Discorde M, Mouillot G, Marcou C, Carosella ED, Moreau P. The 14 bp deletion-insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability. *Hum Immunol* 2003;64(11):1005-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2003.08.347>
28. Wu FX, Wu LJ, Luo XY, Tang Z, Yang MH, Xie CM, et al. Lack of association between HLA-G 14-bp polymorphism and systemic lupus erythematosus in a Han Chinese population. *Lupus* 2009;18(14):1259-66. DOI: <https://doi.org/10.1177/0961203309345756>
29. Hviid TV, Hylenius S, Hoegh AM, Kruse C, Christiansen OB. HLA-G polymorphisms in couples with recurrent spontaneous abortions. *HLA Immune Response Genetics, Tissue Antigens* 2002;60(2):122-32. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2002.600202.x>
30. Cozzani E, Drosera M, Gasparini G, Parodi A. Serology of Lupus Erythematosus: Correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects. *Autoimmune Dis* 2014;2014:321359. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/321359>
31. Medicina Familiar. Nuevos criterios de clasificación para el Lupus Eritematoso Sistémico [Internet]. Escuela de Medicina. 2020 [citado 20 Junio 2019]. Recuperado a partir de: <https://medicina.uc.cl/publicacion/nuevos-criterios-de-clasificacion-para-el-lupus-eritematoso-sistémico/>
32. Aringer M, Dörner T, Leuchten N, Johnson SR. Toward new criteria for systemic lupus erythematosus-a standpoint. *Lupus* 2016;25(8):805-18. DOI: <https://doi.org/10.1177/0961203316644338>
33. Favorgen Biotech Corp. FavorPrep™ 96-well Gel/ PCR Clean-Up DNA Kit. [monografía en Internet]. Australia: Australian distributors: Fisher Biotec Australia; 1997 [acceso 12 de junio de 2019]. Disponible en: <https://www.fisherbiotec.com.au/wp-content/uploads/2019/03/Favorgen-96well-Gel-PCR-Cleanup-14Mar19.pdf>
34. Rodríguez Tarduchi G. Cuantificación de ácidos nucleicos. [monografía en Internet]. Madrid: Fundación Parque Científico de Madrid; 2014 [acceso 23 de agosto de 2019]. Disponible en: <https://www.iib.uam.es/portal/documents/76122/76162/CUANTIFICACION+DE+%C3%81CID+OS+NUCLEICOS+V2.pdf/04333940-c6ff-4419-ad85-cfd1e04dbca8>
35. Rodríguez Tarduchi G. Servicio de genómica del IIBM. (SQP). [monografía en Internet]. Madrid: Fundación Parque Científico de Madrid; 2014 [acceso 22 de junio de 2020]. Disponible en: <https://www.fisherbiotec.com.au/wp-content/uploads/2019/03/Favorgen-96well-Gel-PCR-Cleanup-14Mar19.pdf>
36. Castañeda JA, Gil Laverde JF. Una mirada a los intervalos de confianza en investigación. *Rev Colomb Psiquiatr* 2004;33(2):193-201.
37. Cárdenas Roldán J, Rojas Villarraga A, Anaya JM. How do autoimmune diseases cluster in fam-

- ilies? A systematic review and meta-analysis. BMC Med 2013;11:73. DOI: <https://doi.org/10.1186/1741-7015-11-73>
38. Pérez W. En La Paz se detectan cada año a 130 personas con lupus. La Razón. Martes 13 de mayo de 2014; Sociedad. Recuperado a partir de: http://www.la-razon.com/sociedad/Enfermedad-La_Paz-detectan-ano-personas-lupus_0_20511_94905.html
39. Cozzani E, Drosera M, Gasparini G, Parodi A. serology of lupus erythematosus: correlation between immunopathological features and clinical aspects. Autoimmune Dis 2014;2014: 321359. DOI: <https://doi.org/10.1155/2014/321359>
40. Donadi EA, Castelli EC, Arnaiz Villena A, Roger M, Rey D, Moreau P. Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association. Cell Mol Life Sci 2011;68(3):369-95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0580-7>
41. Velásquez Franco CJ, Anaya Prada A, Rodríguez Padilla LM, Vargas Grajales FI, Ramírez Gómez LA. Manifestaciones cutáneas de lupus eritematoso sistémico temprano y correlación con la actividad sistémica. Iatreia 2011;24(4):359-64.
42. Liu A, La Cava A. Epigenetic dysregulation in systemic lupus erythematosus. Autoimmunity 2014;47(4):215-9. DOI: <https://doi.org/10.3109/08916934.2013.844794>

Nota del Editor:

Journal of the Selva Andina Research Society (JSARS) se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales publicados en mapas y afiliaciones institucionales.