

BIOMARCADORES GENÉTICOS Y NO GENÉTICOS DE SUSCEPTIBILIDAD A PADECER UNA ENFERMEDAD INMUNOMEDIADA

Acosta-Colman^{*1}, S. Cabrera-Villalba¹, G. Avila-Pedretti¹, M. E. Acosta Hetter², M. Vazquez¹, A. Ayala Lugo², V. Jolie², L. Roman¹, M. Melo¹, M. González¹, M. Duarte¹, H. Torio³, M. T. Martínez de Filártiga³

¹Departamento de Reumatología, Hospital de Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Asunción, ²Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud, ³Laboratorio Curie, Asunción, Paraguay

Introducción

La enfermedad inflamatoria inmunomediada (IMID) es un concepto utilizado para describir un grupo de condiciones que comparten vías inflamatorias comunes que conducen a la inflamación sistémica. El factor genético más conocido para la susceptibilidad IMID son los haplotipos del HLA. Hoy en día, hay una falta de información sobre el perfil de HLA en pacientes paraguayos con IMIDs.

Objetivos

Identificar Biomarcadores GENÉTICOS (i.e. HLA) y NO GENÉTICOS (i.e. clínicos, epidemiológicos e inmunológicos) de susceptibilidad de pacientes con enfermedades inmunomediadas paraguayos

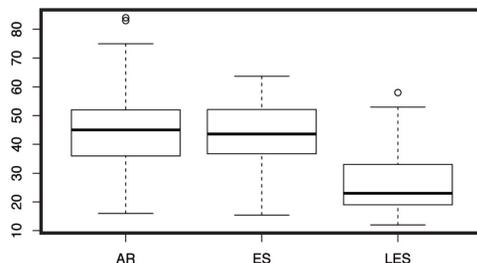
Metodología

Se reclutó una cohorte de 254 pacientes con IMIDs del Hospital de Clínicas de la Cátedra de Reumatología, previo consentimiento informado los pacientes fueron diagnosticados según criterios de clasificación aprobados para cada enfermedad. Para cada paciente se extrajeron 8 ml de sangre periférica de los cuales se utilizó 2 ml y se purificó el DNA genómico mediante el sistema PureLink en columna (Life-technologies - EEUU) y las muestras fueron almacenadas en el Biobanco IMID-PY a -20°C hasta procesamiento. Para cada uno de los pacientes se genotiparon los alelos de los genes del HLA II: HLADRB1, HLADQA1, HLADQB1, HLADPA1 y HLADPB1. El genotipado se realizó en el Laboratorio Curie (Asunción, Paraguay) mediante las tecnologías de PCR por oligonucleótidos con especificidad de secuencia (SSO, Lifecodes, EEUU) y el sistema de cuantificación Luminex. Este método permite una amplificación por PCR específica de cada uno de los alelos con precisión de 4 cifras considerada de muy alta precisión. Además se reclutaron 50 pacientes hipernormales para el grupo control.

Resultados

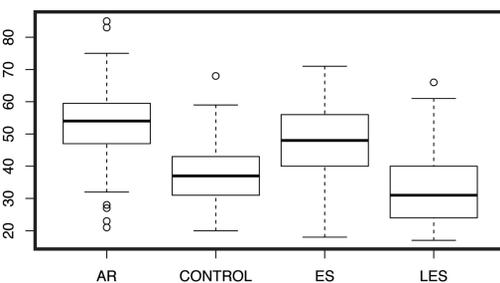
Se incluyeron 254 pacientes con IMID (101 lupus, 103 artritis reumatoide y 50 esclerosis sistémica) y 50 controles hipernormales. De estos 84,6% fueron mujeres con una edad promedio de 43,4 (± 14). Del total de pacientes 59/254 (23,2%) pacientes presentaban antecedentes familiares de una IMID, de los cuales 32/59 (54,2%) eran pacientes con AR. La edad de diagnóstico de la patología fue menor entre las pacientes con LES tal y como se observa en el gráfico 1.

Gráfico 1. Edad de diagnóstico de los pacientes con patologías IMIDs



Si comparamos la frecuencia de consumo de tabaco entre las 3 enfermedades, nos encontramos que los pacientes con ES fumaban significativamente más que pacientes con LES (P=0.021). En cambio el consumo de tabaco no es tan diferente entre AR y ES (P=0.14) o entre AR y LES (P=0.36).

Gráfico 2. Índice de masa corporal en pacientes con IMIDs y en controles.



En relación al IMC vemos que el peso es diferente entre grupos (p.overall = 0.011). Sobre todo, se debe a la diferencia de peso entre las AR y el LES (p=0.0013), tal y como se observa en el gráfico 2. En la dieta, no observamos diferencias en el consumo actual de tabaco (los ex-fumadores se consideran como no fumadores, n=2). Tampoco hay diferencias en alcohol en relación a los controles y las diferentes IMIDs.

Respecto a grupos nutricionales, todos los pacientes claramente consumen menos lácteos y huevos que los controles, y consumen más verduras. En cuanto a la actividad, los controles suelen tener una actividad ocasional (70%), mientras que en AR, ES y LES predomina la ausencia de actividad física.

El 100% de los pacientes con LES tenían ANA positivo. De los cuales 31/101 (30,6%) pacientes presentaban anti RO (+), 5/101 (4,9%) pacientes anti La (+), 14/101 (13,8%) anti Sm (+), 27/101 (26,7%) anti RNP (+), 5/101 (4,9%) pacientes anti Jo (+) y uno solo anti Scl 70+. Del total 12/101 (11,8%) pacientes presentaban anti DNA (+). En relación a los pacientes con AR 94/103 (91,3%) de los pacientes tenían anti-CCP positivo, con una media de 290.5 ± 152.8 U / mL. Los isotipos de RF se observaron en 75,7%, 53,4% y 38,8% para IgM, IgA e IgG respectivamente. Los niveles medios fueron los siguientes, IgA 85.62 ± 56.6 U / mL, IgM 96.7 ± 30.9 U / mL, IgG 70.98 ± 72.42 U / mL. El 32% de los pacientes tenían 2 isotipos de RF, mientras que 25,2% tenían los 3 isotipos positivos. El 57,3% tenía ≥ 2 isotipos de RF.

Se comparó los perfiles de haplotipos para los genes HLA clase II entre los pacientes y los controles sanos, en el análisis de asociación de riesgos, se corroboró la asociación con varios alelos ya relacionados con IMIDs en otras poblaciones tal y como se observa en el gráfico 3 y 4 y otros nuevos no identificados anteriormente en la literatura, tal y como se observa en la siguiente tabla 1.

Gráfico 3. Alelos del gen HLA DRB1 en pacientes con AR y controles.

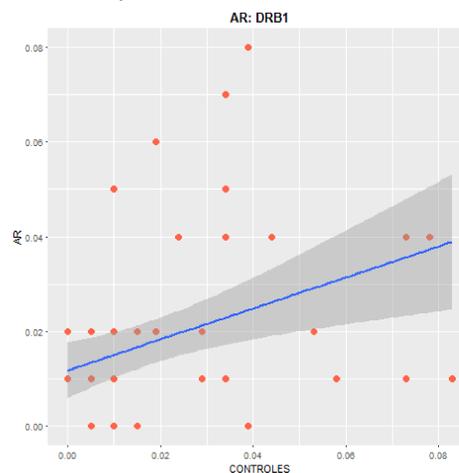


Gráfico 4. Alelos del gen HLA DRB1 en pacientes con ES y controles.

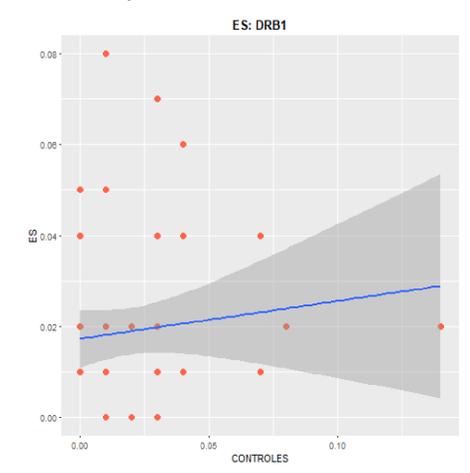


Tabla 1. Alelos de susceptibilidad en pacientes con enfermedades IMIDs (LES, AR y ES).

ALELOS DE LES	Frecuencia controles	Frecuencia casos	P	OR (IC)
DQA1 03:01	26%	13.4%	0.0097	0.44(0.23-0.84)
DQA1 03:02	15%	5%	0.0064	0.3(0.11-0.74)
DQA1 05:01	15%	5.9%	0.017	0.36(0.15-0.86)
DPA1 02:01	10%	24.8%	0.0021	2.95(1.39-6.86)
DPA1 03:01	8%	2,5%	0,035	0.29(0.07-1.05)
DQB1 04:01	11%	0.5%	3.1e-05	0.04(0-0.29)
DPB1 02:01	26%	9.9%	0.00053	0.31(0.16-0.63)
DPB1 01:03	63%	0.5%	2.2e-37	0(0-0.02)
DPB1 02:02	5%	0.5%	0.016	0.1(0-0.87)
DPB1 01:11	4%	0.5%	0.043	0.12(0-1.24)
ALELOS DE AR				
DRB1 08:01	5%	1%	0.04	0.19(0.02-1.17)
DRB1 03:01	1%	8.3%	0.009	8.87(1.35-375.25)
DRB1 14:02	1%	7.3%	0.025	7.74(1.16-330.1)
DQB1 02:01	3%	12.1%	0.01	4.45(1.31-23.6)
DQB1 01:01	25%	3.9%	9.3e-08	0.12(0.05-0.29)
DPA1 04:01	23%	7.8%	0.00038	0.28(0.13-0.59)
DPA1 02:01	10%	2.9%	0.013	0.27(0.08-0.85)
DPB1 01:03	63%	76.7%	0.014	1.93(1.11-3.35)
ALELOS DE ES				
DRB1 11:04	2%	14%	0.0029	7.91(1.74-73.53)
DRB1 08:07	8%	1%	0.035	0.12(0-0.9)
DQB1 04:01	11%	23%	0.037	2.41(1.05-5.84)
DQB1 02:01	3%	14%	0.0093	5.23(1.39-29.32)
DQB1 01:01	25%	3%	7.1e-06	0.09(0.02-0.32)
DPA1 01:01	7%	19%	0.019	3.1(1.17-9.19)
DPA1 04:01	23%	7%	0.0025	0.25(0.09-0.65)

Conclusión

Se han observado características particulares entre los pacientes con IMIDs tanto epidemiológicas como inmunológicas. En el estudio de asociación genética, se han identificado asociaciones ya conocidas y otras nuevas anteriormente no descritas en la literatura. Este es el primer estudio de asociación genética en pacientes con IMID Origen paraguayo.