



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE DE POSTGRADO E INVESTIGACION

**HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO
SECRETARIA DE SALUD**

**ASOCIACION HLA/ESCLERODERMIA EN PACIENTES
MESTIZOS MEXICANOS**

TESIS

**PARA OBTENER EL TITULO DE LA ESPECIALIDAD EN
REUMATOLOGIA**

PRESENTA:

Dr. Juan Manuel Martínez Noriega

ASESOR DE TESIS: DR. GUSTAVO ENRIQUE LUGO ZAMUDIO

MEXICO, D. F. 2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. JOSE GUILLERMO HERNANDEZ VALENCIA

JEFE DE ENSEÑANZA HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO

DR. GUSTAVO ESTEBAN LUGO ZAMUDIO

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIDAD EN
REUMATOLOGIA
HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO

AGRADECIMIENTOS

A mis queridos padres, pues sin el apoyo que me brindan a cada momento y de quienes he aprendido el valor del esfuerzo como guía hacia el éxito.

A mi querida madre, por su esfuerzo incansable y gran respaldo que me brinda. Lo más grande que tengo en la vida

A mis hermanos con quienes me siento orgulloso

Gracias

A todos mis maestros, a quienes debo mi formación académica. En especial al gremio médico quienes sin nada a cambio me han brindado sus conocimientos

En especial al Dr. Gustavo Lugo Z. por brindarme la oportunidad de entrar al maravilloso mundo de la reumatología

A todos los pacientes que sufren con sus padecimientos y nos permiten obtener los conocimientos de sus padecimientos.

INDICE

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN..... | 4 |
| ANTECEDENTES..... | 5 |
| OBJETIVO..... | 29 |
| MATERIAL Y METODOS..... | 29 |
| Población de estudio..... | 29 |
| Recolección y procesamiento de muestras..... | 30 |
| RESULTADOS..... | 37 |
| DISCUSION..... | 40 |
| CONCLUSIONES..... | 41 |
| RESUMEN..... | 42 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 42 |

INTRODUCCION

ESCLERODERMIA (ESCLEROSIS SISTEMICA)

La esclerosis sistémica es un trastorno multisistémico del tejido conjuntivo caracterizado clínicamente por aumento anormal de depósitos de colágeno en la piel y órganos viscerales, alteraciones microvasculares y diversas anormalidades inmunes, tanto celulares como humorales. Se desconoce su etiología y los procesos fisiopatológicos no son del todo claros. Una hipótesis unificadora debe explicar la heterogeneidad de los patrones de extensión y progresión de la enfermedad, así como la afectación de órganos internos. La lesión inicial es disparada por influencia ambiental en sujetos genéticamente predispuestos e involucra alteraciones vasculares, anomalías inmunológicas (inflamación) con posterior cúmulo de matriz extracelular en piel y órganos ⁽¹⁾.

La esclerodermia tiene consecuencias trágicas para el paciente, con morbi-mortalidad sustanciales en relación directa con la extensión y gravedad de afección de órganos internos. Al ser una entidad de la que no se termina por aclarar su etiología, no existe tratamiento curativo. Sin embargo se cuenta con algunas modalidades de tratamiento para las distintas fases de la enfermedad ⁽¹⁾.

ANTECEDENTES

COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD (HLA)

El complejo principal de histocompatibilidad del ser humano es una región de cuatro megabases (Mb), los genes que codifican la cadena α del MHC I y las cadenas α y β del MHC II situado en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3) está formado por lo menos por 4,000,000 pares de bases que contienen más de 200 genes expresados. Los más conocidos son los del HLA clase I, II y III, cuyos productos resultan esenciales para la especificidad inmunitaria y la histocompatibilidad de los trasplantes; de la misma forma desempeñan un papel importante en la predisposición a diversas enfermedades autoinmunes ^(2, 3, 4).

Los genes HLA de clase I se localizan en un segmento de DNA de 2Mb en el telómero de la región HLA. Hay tres genes de la cadena α de clase I llamados HLA-A, HLA-B y HLA-C, participan de forma integral en la respuesta inflamatoria frente a infecciones intracelulares, neoplasias y aloinjertos, se expresan en todas las células nucleadas y son muy polimorfos en la población. El polimorfismo se refiere a un grado alto de variación alélica en un locus genético, que da lugar a una gran variedad entre individuos distintos que expresan alelos diferentes. Se han identificado más de 260 alelos en HLA-A, 500 en HLA-B y 125 en HLA-C en distintas poblaciones de seres humanos, por lo que constituye el segmento más polimórfico conocido dentro del genoma humano. Cada alelo de estos loci codifica una cadena pesada (también denominada cadena α) que se asocia mediante un

enlace no covalente a la cadena ligera no polimorfa microglobulina β 2, codificada en el cromosoma 15 ^(2, 3).

La nomenclatura de los genes HLA y de sus productos pone de manifiesto la injerencia de la información actual sobre la secuencia del DNA en el antiguo sistema basado en la serología. Los tipos serológicos se denominan mediante números consecutivos por ejemplo, HLA-I, HLA- B8. Los alelos de clase I reciben una única designación que indica el locus y especificidad serológica y el subtipo basado en la secuencia. Por ejemplo HLA-A*0201 hace referencia al subtipo 1 del alelo HLA-A2 definido mediante serología. La genotipificación precisa del HLA requiere el análisis de la secuencia de DNA para comprender la asociación de HLA con ciertas enfermedades. Estructuralmente existen dos características que definen las propiedades funcionales de las moléculas de HLA de clases I y II. La primera es la hendidura de unión a péptidos (sitio de unión del antígeno) y la segunda el sitio de unión para enlazar ya sea CD8+ o CD4+ en el caso de moléculas HLA I y II respectivamente que se expresan en los linfocitos T maduros. Existen moléculas de HLA que no son clásicas, o clase Ib, se denominan HLA-E,- F y G.

Los genes del HLA clase II presentan un único haplotipo en su mayoría, agrupado en tres subregiones principales: HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ. Cada una de estas subregiones contiene por lo menos un locus α funcional y un locus β funcional. Existen varios genes DRB (DRB-1, DRB-2, DRB-3, etc.). Se han identificado más de 325 alelos en el locus HLA-DRB1. En la región DQ tanto DQ -A1 como DQ-B1,

son polimórficos con 22 y 51 alelos respectivamente. La nomenclatura actual es análoga a la que se presentó anteriormente para el HLA clase I, utilizando el convencionalismo (locus*alelo). Por tanto los subtipos de la especificidad definida DR4, codificada con el locus DR-B1, se denominan DR-B1*0401, -0402, etc. Además diferentes productos de alelos DQ-A1 mediante emparejamientos en cis y trans para dar origen a una complejidad de combinaciones y amplían el número de moléculas de clase II expresadas. Debido a la extraordinaria diversidad alélica en la población en general, la mayoría de los individuos son heterocigotos en todos los loci de clase I y II (2, 3, 4).

Todas las moléculas de las moléculas de MHC clase I y clase II pueden presentar péptidos a los linfocitos T, pero cada proteína se une a un rango diferente de péptidos. Muchos genes ubicados en este locus participan en el procesamiento o en la presentación de antígenos, o que tienen otras funciones relacionadas con la respuesta inmunitaria innata o adaptativa. La presencia de Interferones α , β o γ incrementan la transcripción de los genes de MHC

ESTRUCTURA Y FUNCION DEL MHC

Característicamente contienen dominios funcionales especializados responsables de las peculiares propiedades genéticas e inmunitarias de complejo HLA. ***La principal función conocida de las moléculas clase I y II consiste en unirse a péptidos antigénicos con el fin de presentar el antígeno a una célula T apropiada.*** Hay dos clases de moléculas del HLA clase I y clase II; difieren

tanto en su estructura como en su modelo de expresión en los tejidos del cuerpo. Ambas se relacionan en forma estrecha en cuanto a estructura general, pero difieren en su composición de subunidad. En ellas los dos dominios proteínicos pareados más cercanos a la membrana semejan dominios de inmunoglobulina, mientras que los dos dominios alejados de la membrana se pliegan y se unen entre sí para crear la hendidura de unión al péptido.

Las moléculas de HLA clase I constan de dos cadenas polipeptídicas. Una de ellas la cadena α , se codifica en el HLA (en el cromosoma 6) y se relaciona de modo no covalente con una cadena de menor tamaño, la β -2 microglobulina, que es no polimórfica y está codificada en un cromosoma diferente, el cromosoma 15. Solo la cadena α clase I abarca la membrana. La molécula completa tiene cuatro dominios, tres formados por la cadena α y otro aportado por la β -2 microglobulina. Los dominios α -3 y β -2 microglobulina semejan dominios de inmunoglobulina ⁽³⁾. Los dominios α -1 y α -2 plegados forman el sitio de unión al antígeno. En este sitio se encuentran las principales diferencias en cuanto a polimorfismos del HLA que dan la alta especificidad del antígeno. Las moléculas del HLA clase II constan de un complejo no covalente de dos cadenas α y β , de las cuales ambas abarcan la membrana. Ambas están codificadas dentro del gen HLA. El sitio de unión a antígeno en este caso está dado por el plegamiento de los dominios α 1 y β 1. El péptido unido al MHC forma una estructura terciaria denominada MHC-péptido, que se comunica con los linfocitos T mediante el receptor de célula T (TCR). Esta unión estabiliza además la molécula de HLA. Esto se lleva a cabo principalmente en el

timo, donde hay una selección positiva y negativa de estos linfocitos. Entonces la interacción MHC-péptido-TCR constituye el acontecimiento central en las respuestas inmunitarias específicas de antígeno. La unión de las moléculas CD8 Y CD4 a la molécula de clase I y II respectivamente, también contribuye a la interacción entre la célula T y el complejo HLA-péptido (presentación de antígeno) (2, 3, 4).

ESCLERODERMIA (ESCLEROSIS SISTEMICA)

DEFINICION DE ESCLERODERMIA:

El término esclerodermia, de griego skleros (duro); derma (piel).

CLASIFICACION

Basados en las evaluaciones clínicas y analíticas el cambio cutáneo esclerodermatoso en cualquier lugar proximal a las articulaciones metacarpofalángicas es el principal criterio con sensibilidad del 91% y especificidad mayor al 99%. La presencia de dos o más de las anomalías siguientes contribuyen como criterios menores: esclerodactilia, cicatrices con picado en la punta de los dedos o pérdida de sustancia de la yema digital, y fibrosis de ambas bases pulmonares ⁽⁵⁾.

Estos criterios son útiles para asegurar la uniformidad en la investigación clínica carecen de valor para el diagnóstico diferencial

Tabla 5.1 CLASIFICACION ESCLEROSIS SISTEMICA

| |
|--|
| Esclerosis sistémica cutánea difusa |
| Engrosamiento cutáneo del tronco, además de la cara y las regiones proximales y distales de las extremidades. |
| Esclerosis sistémica cutánea limitada |
| Engrosamiento cutáneo limitado a las regiones distales del codo y la rodilla, pero también con afectación de la cara y cuello Sinónimo: Síndrome de CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasias) |
| Esclerosis sistémica sin esclerodermia |
| Manifestaciones características de los órganos internos, y anomalías vasculares y serológicas, pero sin alteración cutánea clínicamente detectable |
| Síndrome de sobreposición |
| Cualquiera de las tres formas previas, junto con un diagnóstico de lupus eritematoso sistémico, enfermedad muscular inflamatoria o artritis reumatoide Sinónimos: enfermedad mixta de tejido conjuntivo, lupoderma, esclerodermatomiositis. |
| Enfermedad indiferenciada de tejido conjuntivo |
| Fenómeno de Raynaud con características clínicas, serológicas, o ambas de esclerosis sistémica (ulceración de los dedos, asas capilares anormales en pliegues ungueales, anticuerpos contra centrómero, edema de los dedos), pero sin engrosamiento cutáneo ni anomalías de los órganos internos típicos de la esclerosis sistémica. |
| Esclerodermia inducida por factores ambientales (drogas) |
| Pre-Esclerodermia |
| Fenómeno de Raynaud, asociado a autoanticuerpos específicos de esclerodermia y alteraciones en capilaroscopia características de la misma |

INCIDENCIA Y EPIDEMIOLOGIA

La epidemiología tiene como misión describir los factores que afectan la salud y la enfermedad en las poblaciones. Específicamente se encarga de estudiar la distribución de las enfermedades para que los servicios de salud

puedan ser designados apropiadamente, también señala las tasas de ocurrencia de las enfermedades con sugerencias de factores causales, estudia los factores determinantes o probables de las causas de enfermedad y evalúa tratamientos usando herramientas epidemiológicas como los ensayos clínicos, entre otras.

En Estados Unidos se estima que aproximadamente del 5% al 8% de la población sufre alguna enfermedad autoinmune. Algunas de estas son relativamente raras, con incidencias menores de 5 por 100 000 personas por año o prevalencias de menos de 20 por 100 000 personas. Otras por el contrario son comunes y afectan a más del 1% de la población.

La esclerosis sistémica es una enfermedad poco frecuente lo cual dificulta la determinación de estimados poblacionales. La información se deriva de estudios prospectivos y retrospectivos realizados en hospitales de tercer nivel, es posible que subestimen la frecuencia de esta enfermedad en el ámbito de la población general. La incidencia varía de 9 y 19 casos por millón de habitantes ⁽⁶⁾. Estudios recientes estiman una prevalencia de 28-248 casos por millón de habitantes por año, con una incidencia anual de 1.93 por cada cien mil adultos; excluyendo las agrupaciones poblacionales específicas tales como los indios Choctaw. Estudios poblacionales recientes sugieren que la enfermedad ocurre más frecuentemente en Estados Unidos, que en Europa, Inglaterra y algunas áreas de Australia. Reportes iniciales sugerían que la agregación familiar era poco común, pero recientemente se ha cuestionado esta aseveración. Estudios en

Sydney, Australia estiman un riesgo familiar estimado de 1.6% en familiares de primer grado y en población general de 0.026%.

El riesgo absoluto en familiares con esclerosis sistémica fue relativamente bajo; con un riesgo relativo aproximado 15 veces mayor en relación con la población general. Estudios recientes sugieren que la afección familiar tiene concordancia con la presencia de anticuerpos esclerosis sistémica específicos, además apoyan la predisposición genética. Basados en estos estudios, una historia familiar positiva para esclerodermia confiere un fuerte pero desconocido riesgo para desarrollar la enfermedad ⁽⁷⁾.

La investigación en gemelos monocigotos permite cuantificar el papel genético contra factores ambientales en enfermedades específicas. Existen reportes de caso que describen concordancia para esclerosis sistémica en gemelos monocigotos. Un estudio norteamericano examinó 42 gemelos monocigotos y dicigotos demostrando una concordancia aproximada al 5%, esto no implica susceptibilidad genética. La concordancia de anticuerpos antinucleares fue significativamente mayor en gemelos monocigotos (90%) que en dicigotos (40%) ⁽⁸⁾. En la tabla 5.2 se describe el riesgo de esclerodermia en familiares.

Sexo. Afecta en mayor proporción a mujeres que a hombres en todas las poblaciones, con amplia variación de 1:1 a 14:1. Este predominio es más aparente en edades tempranas.

Edad. Varía según el sexo y la etnia, se incrementa con la edad llegando a su máximo entre los 45 y 65 años. Rara en la niñez.

Mortalidad y sobrevida. Se estima en 1 por millón en los hombres y 2-3 por millón en las mujeres. Con el advenimiento de nuevas terapias para el tratamiento del compromiso orgánico la mortalidad ha disminuido significativamente por diversas razones especialmente para el manejo exitoso de las crisis renales. Actualmente la sobrevida a 5 años se estima es del 86% y a 10 años del 74%.

El estudio detallado de un agrupamiento de casos bien definidos de esclerosis sistémica en indios Choctaw del sudeste de Oklahoma ha relacionado la expresión de la enfermedad con un haplotipo HLA exclusivo de los amerindios ^(7, 10).

FACTORES ETNICOS

Existen influencias étnicas que dan susceptibilidad a enfermedades autoinmunes, incluyendo esclerodermia. Los afroamericanos tienen el mayor riesgo reportado de esclerodermia (22.5 casos por millón por año) comparado con mujeres caucásicas (12.8 casos por millón por año) además tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedad severa a edades más tempranas.

La prevalencia estimada en indios Choctaws fue de 469 casos por cien mil en un periodo de cuatro años. Esta prevalencia fue significativamente mayor que en otras poblaciones incluso que en otras nativas americanas en Oklahoma. Estos pacientes presentaron formas severas de enfermedad. No se identificaron factores ambientales asociados y el factor de riesgo más fuerte fue la expresión de HLA II

DRB1*1602, DQA1*0501, DQB1*0301. Con expresión anormal del gen de la fibrilina 1 (FBN1) y el gen del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), IL-1, factor inhibidor de migración de macrófagos, quimiocinas, sintetasa de óxido nítrico, factor de crecimiento endotelial vascular, endotelina 1, enzima convertidora de angiotensina, factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF), entre otros ⁽⁹⁾.

FACTORES GENETICOS

El complejo principal de histocompatibilidad o HLA es la región con más polimorfismos en el genoma humano. Estos polimorfismos se han vinculado a numerosas enfermedades autoinmunes incluyendo artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, lupus eritematoso generalizado y muchas otras. La esclerosis sistémica se ha asociado con polimorfismos específicos en el HLA, condición que ha sido revisado en múltiples estudios. Esta asociación es consistente y se ha reproducido en diferentes poblaciones; tal es el caso de la expresión de haplotipos HLA-DR5 (DRB1 *1101 y *1104, DQA1 *0501, DQB1 *0301) y DR3 (DRB*0301, DQA1*0501, DQB1*0201) en pacientes caucásicos europeos y americanos ^(10,11,12), los haplotipos HLA-DR2 (DRB1*1502, DQB1*0601) en Japoneses ⁽¹³⁾ y el HLA-DR2 (DRB1*1602, DQA1*0501, DQB1*0301) en indios Choctaw ^(14, 15,16). Es de particular interés el hallazgo de frecuencia significativamente mayor de HLA-DQA1*0501 en hombres con esclerosis sistémica ⁽¹⁵⁾. En un estudio reciente que involucro a 1300 pacientes (961 blancos, 178 negros y 161 hispanos se estudió la prevalencia de HLA II asociados y HLA que confieren protección.

Se encontró fuerte positividad en Blancos e hispanos a HLA-DRB1*1104, HLA-DQA1*0501, HLA-DQB1*0301. mientras que DRB1*0701, DQA1*0201, DQB1*0202 y DRB1*1501 se correlacionaron negativamente confirmando un probable efecto protector; en negros DRB1*0804, DQA1*0501, DQB1*0301 mostraron el mayor OR ⁽¹⁴⁾ para anticuerpos anti-topoisomerasa; DQB1*0501, DQB1*26 para anticuerpos anticentrómero; y para anticuerpos anti-RNA polimerasa DRB1*0404, DRB1*11 y DQB1*03 en blancos e hispanos pero DRB1*08 en negros ⁽¹⁶⁾. Existe fuerte asociación con haplotipos HLA y autoanticuerpos específicos de esclerosis sistémica, incluyendo haplotipos HLA-DRB1*1104 y DPB1*1301 en blancos; DQB1*0301 y DPB1*1301 en Afroamericanos; haplotipos DR2 en Japoneses DRB1*1502, DQB1*0601, DPB1*090 y en Choctaws DRB1*1602, DQB1*0301, DPB1*1301 con anticuerpos antitopoisomerasa. Además con HLA-DQB1*0501 y otros alelos DQB1 con anticuerpos anti-centrómero ⁽¹⁷⁾.

En mestizos Mexicanos un estudio realizado en 1995 reportó asociación de HLA DR5 (DRB1*1104) en 10 de 41 pacientes con esclerodermia (24.3%) comparado con 6 de 85 controles (7%) ($p=0.01$, $RR=4.25$) ⁽¹⁸⁾.

La asociación de HLA-DRB1*1302, DQB1*0604, *0605 con anticuerpos antifibrilina (anti-U3-RNP) se ha encontrado en pacientes hombres Afroamericanos, y el haplotipo HLA-DRB1*0301 asociado con anticuerpos anti-PM-Scl en pacientes Caucásicos. Finalmente la asociación HLA-DQ B1*0201 con anticuerpos anti-RNA polimerasa I, II y/o III, pero esta asociación no se ha observado en otros estudios

(19). En la tabla 5.3 se describe la asociación de HLA con anticuerpos específicos, las manifestaciones clínicas y los genes expresados.

Las manifestaciones clínicas y serológicas se han relacionado fuertemente con grupos raciales. Múltiples factores entre los que se cuentan características genéticas y ambientales modulan la expresión de estas manifestaciones clínicas, el curso de la enfermedad y autoanticuerpos relacionados (19).

AUTOINMUNIDAD E INFLAMACION

HLA. El sistema antígeno linfocitario humano (HLA) se ha asociado a múltiples enfermedades, sobre todo a las denominadas autoinmunes. En el caso de la esclerosis sistémica las asociaciones son modestas y circunscritas a un grupo étnico en particular. Entre las asociaciones más consistentes se encuentran los haplotipos del HLA-DR5 (DRB1*1101 y *1104, DQA1*0501, DQB1*0301) y DR3 (DRB*0301, DQA*0501 DQB1*0201) con grupos caucásicos europeos y americanos (13,14,15,16), HLA-DR2 (DRB1*1502, DQB1*0601) en japoneses (13) y el HLA-DR2 (DRB1*1602, DQA1*0501, DQB1*0301) en la etnia indígena americana Choctaw (17).

Interleucinas. Diversos polimorfismos de los genes de interleucina, destacando interleucina 1 α y 1 β , interleucina 6, interleucina 10, receptor A2 para la interleucina 13 y receptor de interleucina 23 se han asociado a esclerosis sistémica, con niveles séricos incrementados (20, 21).

Factor inhibidor de la migración macrófagos (MIF) es liberado por linfocitos T activados y macrófagos, promueve la producción de TNF alfa y otras Interleucinas ⁽²²⁾.

Factor inflamatorio de aloinjerto (AIF-1), expresada por neutrófilos y macrófagos y puede inducir la expresión de colágena tipo I y III en fibroblastos normales ⁽²³⁾.

Proteínas tirosín fosfatasa sin receptor 22 (PTPN22) y las quimiocinas CCL2, CCL5 (RANTES), CCL3, CXCL8 ⁽²⁴⁾.

Función vascular. Sintetasa del óxido nítrico (NOS). El oxido nítrico es un potente vasodilatador y regulador del tono vascular. Sintetizado a partir de la L-arginina por la NOS. Existen tres isoformas; NOS1 (nNOS) o neural, NOS2 o inducible (iNOS) y NOS3 o endotelial (eNOS). iNOS se ha implicado fisiopatológicamente con la esclerosis sistémica, especialmente en hipertensión pulmonar ^(21, 22, 23).

Enzima convertidora de angiotensina (ECA). Polimorfismos en el gen de la ECA se han asociado con un efecto dosis dependiente, y secundariamente con los niveles de angiotensina II un potente vasoconstrictor ⁽⁷⁾.

Endotelina 1. Por su potente actividad vasoconstrictora se le han atribuido varias funciones como activación, proliferación y contracción de fibroblastos, así como remodelación tisular ⁽⁷⁾.

Fibrosis y producción de la matriz extracelular. Factor de crecimiento transformante β (TGF- β), enzima que controla la diferenciación y proliferación celular, activa la expresión de componentes de la matriz extracelular como las colágenas tipo I y III y VI, fibronectina y proteoglicanos. Otros implicados son el factor de crecimiento derivado de plaquetas α/β (PDGF), factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) y proteína secretada, ácida y rica en cisteína ⁽⁷⁾.

Algunos factores ambientales se han vinculado a la etiología de la esclerosis sistémica, tales como agentes infecciosos en particular los virus como disparadores de la cascada de eventos inflamatorios en individuos susceptibles genéticamente a esclerosis sistémica. Estudios recientes sugieren que anticuerpos esclerodermia específicos (Scl-70) reaccionan con la proteína UL90 del Citomegalovirus humano, asimismo se ha vinculado incremento en la producción de factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF); otros virus como Parvovirus B19, Epstein Barr y retrovirus se han vinculado. Estos anticuerpos fueron capaces de inducir apoptosis de células endoteliales y tienen la capacidad de activar fibroblastos humanos en cultivos ⁽²⁵⁾.

Estudios europeos sugieren que la esclerodermia localizada (morfea) puede asociarse con infección por B. Burgdorferi.

Se han implicado otros factores ambientales como exposición a sílice, minerales como el oro o carbón en mineros ⁽²⁶⁾. No ha sido posible demostrar la asociación de esclerosis sistémica con prótesis de silicón en pacientes con cáncer de mama

que habían sugerido algunos estudios. Otros agentes como a productos de hidrocarburos, clorhidrato de vinilo, tolueno, benceno, L-triptófano, drogas como la Bleomicina, Paclitaxel, Cocaína, Carbidopa, Pentazocina entre otros han sido implicados.

En la patogénesis de la esclerosis sistémica la alteración en la regulación del sistema inmune juega un papel central, las investigaciones se han enfocado en diferentes poblaciones celulares individuales tales como los linfocitos T. Estos estudios son críticos en el avance para entender la enfermedad pero son limitados en cuanto explicar los cambios que pueden observarse cuando múltiples poblaciones celulares interactúan en la enfermedad. Diferentes estudios han demostrado la expresión de genes de 18 interferón-alfa inducibles. Además estos reportes han demostrado la activación de genes de interferón dependientes del receptor toll, TLR-7 y TLR-9 así mismo se ha demostrado un incremento en la expresión de moléculas de adhesión incluyendo las familias de la selectina e integrina ⁽²⁷⁾. La evidencia de la fuerte contribución genética a la patogénesis de la esclerodermia continúa en estudio. Estudios epidemiológicos sugieren que una historia familiar es el factor de riesgo más fuerte, pero que también contribuye la etnicidad.

Tabla 5.2. ESCLERODERMIA Y RIESGO EN FAMILIARES (AGARWAL et al)

| Población | Frecuencia (%) |
|---|-----------------------|
| Población general (prevalencia) | 0.026 |
| Familiares de primer grado de pacientes con esclerodermia | 1.60 |
| Gemelos monocigotos de pacientes con esclerodermia (concordancia) | 5.0 |
| Gemelos monocigotos con anticuerpos antinucleares (concordancia) | 90 |
| Gemelos monocigotos con genes de fibrilina (concordancia) | 50 |

Tabla 5.3. ASOCIACION GENETICA DE ANTICUERPOS CON ESCLERODERMIA (AGARWAL et al)

| Autoanticuerpo | Características clínicas | HLA asociado | Gen candidato asociado |
|------------------------|--|---|--|
| Anti-topoisomerasa I | Afección dérmica difusa Fibrosis intersticial pulmonar Protección para hipertensión pulmonar | Blancos: DRB1*1104,DPB1*1301 Afroamericanos: DQB1*0301, DPB1*1301 Japoneses: DRB1*1502, DQB1*0601, DPB1*0901 Choctaws: DRB1*1602, DQB1*0301, DPB1*1301 | PTPN22 R620W CTGF G-945C |
| Anticentrómero | Esclerosis sistémica limitada, Hipertensión pulmonar, Enfermedad esofágica. Protección para enfermedad intersticial pulmonar y crisis renal | DQB1*0501 y otros DQB1 | AIF-1 +899T |
| Anti-RNApolimerasa | Hipertensión pulmonar; úlceras digitales Crisis renal Fibrosis dérmica rápidamente progresiva | DQB1*0201 | PTPN22 R620W EDNRA H323H/C y E335E/A |
| Anti-PM-Scl | Miositis sobrepuesta | DRB1*0301 | |
| Anti-U3RNP (Fibrilina) | Afroamericanos y hombres | DRB1*1302, DQB1*0604/0605 | |

FORMAS DE PRESENTACION

Fenómeno de Raynaud y esclerosis sistémica.

El fenómeno de Raynaud se presenta en el 90% de los casos con esclerosis sistémica. Tiene una prevalencia del 5-10% en no fumadores, y de hasta el 30% en mujeres premenopáusicas. Es general es la primera manifestación de esclerodermia y de otras enfermedades de tejido conectivo.

Afección de la piel.

Alteración edematosa. Una característica intrínseca es la tumefacción indolora de los dedos y la mano conocida como esclerodermia edematosa se asocia con síntomas de rigidez matutina y artralgia, así como compresión del nervio mediano. Desde el punto de vista pronostico cuanto más tiempo permanece el paciente en esta fase más favorable. El edema se debe en parte al depósito de glucosaminoglucanos hidrofílicos en la dermis.

El engrosamiento de la piel en la esclerosis sistémica comienza siempre por los dedos y las manos, a continuación se suele afectar la piel de la cara y cuello con limitación de la apertura oral. La extensión a los antebrazos se sigue de detención espontanea de la progresión. Pueden aparecer áreas de hiperpigmentacion e hipopigmentación. En la esclerodermia cutánea difusa el engrosamiento de la piel se extiende en dirección proximal a hombro y pelvis, así como a abdomen y dorso ⁽²⁸⁾.

Evaluación.

El método más ampliamente aceptado para monitorizar los cambios cutáneos en la esclerosis sistémica es la simple palpación clínica. La palpación cutánea de Rodnan modificada emplea una escala de calificación cualitativa: 0 piel normal; 1 esclerosis dudosa; 2 esclerosis definitiva, y 3 contractura en flexión ⁽²⁸⁾.

ALTERACIONES HISTOPATOLOGICAS

Inicialmente se caracteriza por vasculopatía oclusiva/obliterativa no inflamatoria con infiltración de Linfocitos T CD4+ y CD8+ y monocitos. En fase crónica el aumento de tensión y grosor de la piel se debe a la acumulación excesiva de colágeno y otros constituyentes de la matriz extracelular, incluyendo glucosaminoglucanos y fibronectina.

CARACTERISTICAS INMUNOLOGICAS

Los anticuerpos antinucleares existen en mas del 90% de forma inespecífica. Los anticuerpos anticentrómero aparecen en el 50 al 96% de los pacientes con esclerosis sistémica limitada. Se asocia con más frecuencia al desarrollo de telangiectasias y calcinosis, y experimentaron con menos frecuencia enfermedad pulmonar restrictiva que los carentes de esos anticuerpos. Los anticuerpos anti-DNA Topoisomerasa I contra un antígeno de 70 kDa denominado Scl-70, se

presentan entre el 20 y 40% de los pacientes diagnosticados con esclerosis sistémica ⁽²⁹⁾.

Dentro de las anomalías de la inmunidad celular la infiltración linfocitaria de la dermis inferior ocurre pronto en la esclerosis sistémica, y consiste sobre todo en linfocitos T CD4; con incremento de la expresión de receptores IL-2 (CD25), así como bajos niveles séricos de IL-1. Se han descrito aumentos inconsistentes de los niveles de IL-4, IL-6 y TNF ⁽³⁰⁾.

MANIFESTACIONES CLINICAS

El individuo con esclerosis sistémica puede experimentar una amplia gama de síntomas generales como fiebre, malestar general y fatiga fácil son síntomas universales, al igual que la pérdida de peso, incluso en ausencia de afección gastrointestinal. Manifestaciones musculoesqueléticas; artralgia generalizada y la rigidez matutina son síntomas típicos, se ha demostrado artropatía erosiva en hasta 29% de los pacientes ⁽³¹⁾. La pérdida inexorable de función de las manos constituye la regla. La debilidad muscular insidiosa ocurre en muchos pacientes con esclerosis, con elevación leve de enzimas musculares, situación que requiere el estudio de miopatía inflamatoria asociada. La osteopenia es común en la esclerosis sistémica. La resorción con disolución de las puntas de los dedos (acro-osteólisis) ocurre en la enfermedad de larga evolución y se explica mejor por la isquemia digital crónica. Se produce calcinosis subcutánea en aproximadamente en 40% de los pacientes con esclerodermia.

El aparato digestivo es la tercera afectación más común y la afectación esofágica representa la principal manifestación de la esclerosis sistémica sin esclerodermia. Se describe como sensación de ardor retroesternal, disfagia “atragantamiento”; la función esofágica puede ser valorada por manometría, esófagograma y esofagoscopia ⁽³²⁾. Son comunes la enfermedad por reflujo esofágico, esofagitis y esófago de Barrett. La afección del intestino delgado es más común en pacientes con esclerodermia limitada de larga evolución y se manifiesta por meteorismo, retortijón, diarrea intermitente o crónica, sobrecrecimiento bacteriano y manifestaciones de obstrucción intestinal. La afección del colon rara vez causa sintomatología, aunque se puede presentar incontinencia de esfínter anal. La cirrosis biliar primaria está bien descrita como cuadro solapado a la esclerosis sistémica, sobre todo en pacientes con enfermedad limitada de larga evolución ⁽³³⁾.

Las manifestaciones pulmonares constituyen la principal causa de mortalidad y una fuente importante de morbilidad. La disnea de esfuerzo progresiva, la tolerancia al esfuerzo limitada y la tos no productiva son típicas. Los signos físicos incluyen estertores finos al principio de la inspiración en caso de fibrosis intersticial y reflejan la presencia de hipertensión pulmonar. Se ha encontrado en el 33% de los pacientes hipertensión arterial pulmonar esclerosis sistémica cutánea difusa y en 5-10% con esclerodermia limitada. ⁽³⁴⁾ La radiografía de tórax revela aumento de las marcas intersticiales, más destacado en las bases. La tomografía computarizada de alta resolución es un estudio mucho más sensible y debe realizarse en todo paciente con diagnóstico de esclerodermia como parte de

la valoración inicial. Las manifestaciones clínicas y las pruebas de función pulmonar como la capacidad de difusión de monóxido de carbono, volúmenes pulmonares constituyen la clave del diagnóstico y la evaluación funcional seriada ⁽³⁵⁾.

Afectación cardiovascular. La principal complicación es el Cor pulmonale, pero suele haber compromiso directo en corazón como la fibrosis miocárdica focal se ha encontrado hasta en un 81% de los pacientes con esclerosis sistémica y constituye un determinante principal de la supervivencia en la esclerosis sistémica ⁽³⁶⁾. Los signos físicos son inespecíficos y pueden incluir galope ventricular, taquicardia sinusal, y signos de insuficiencia cardíaca congestiva. Las anomalías electrocardiográficas en reposo como las arritmias auriculares y ventriculares y los trastornos de la conducción se encuentran en casi el 50% de los pacientes ⁽³⁷⁾.

La afectación renal con inicio súbito de hipertensión acelerada a maligna, insuficiencia renal rápidamente progresiva, hiperremiemia, y evidencia de hemólisis microangiopática describe el síndrome de “crisis renal de la esclerodermia” ⁽³⁸⁾. En general se encuentra proteinuria de algún grado y la complicación es más frecuente en esclerosis sistémica cutánea difusa. La anemia severa asociada a trombocitopenia resulta una complicación poco común. Los cilindros hemáticos pueden proporcionar la clave para el diagnóstico precoz.

Otras manifestaciones se han descrito como las alteraciones tiroideas (hipotiroidismo), así como asociación con síndrome seco (de Sjögren) ^(39,40). En general la esclerosis sistémica respeta el sistema nervioso central. Sin embargo

son bien conocidas las neuropatías por compresión, entre ellas en síndrome del túnel de carpo y neuropatía de trigémino.

Se ha descrito coincidencia de enfermedad maligna y esclerodermia. ^(41.) Con series que describen riesgo relativo de cáncer del pulmón del 16.5 entre los pacientes de esclerosis sistémica. Otras neoplasias asociadas son el cáncer de mama, carcinoma esofágico.

TRATAMIENTO

Los objetivos del tratamiento además de mejorar la supervivencia incluyen. 1) Prevención de la afectación de órganos internos; 2) frenado o detención del deterioro de la función de órganos previamente afectados; 3) mejoría de la función de los órganos previamente afectados (entre ellos la piel), o 4) o alguna combinación de éstos. Actualmente el tratamientos farmacológico es limitado al no tener el suficiente conocimiento en cuanto al origen de la enfermedad; Sin embargo se cuenta con modalidades terapéuticas con alguno resultados.

Los glucocorticoides carecen de eficacia para frenar el progreso de la esclerosis sistémica. Su uso se limita al control de la miositis inflamatoria y posiblemente en la fase inflamatoria dérmica , alveolitis fibrosante y serositis de hecho se emplean en dosis bajas (20-30 mg), ya que se han relacionado con aumento en la incidencia de crisis renal en esclerodermia.

En fase inflamatoria de la enfermedad se han estudiado diversos inmunomoduladores con diferente eficacia entre los que destacan Ciclosporina, Rapamicina, Mofetil Micofenolato, Inmunoglobulina antitimocito, Inmunoglobulina antilinfocito. Asimismo se utilizan plasmaféresis, fotoferésis. Actualmente se usa el trasplante de células madre seguido de inmunomoduladores con reportes prometedores, asimismo se estudia el empleo de citocinas antifibroticas, antioxidantes. En la fase crónica con la esclerosis establecida se han estudiado colchicina, ketotifeno, gamma-interferon con algunos resultados sobre la afección cutánea ^(42, 43). El fármaco mas empleado en la esclerosis sistémica es la D-penicilamina cuyo efecto consiste en mejorar la afección cutánea, así como menor incidencia de afección visceral nueva, en particular renal y mejoría en la sobrevida ⁽⁴⁴⁾. El alfa-interferón y Metotrexate no han probado beneficios. La hipertensión arterial pulmonar se trata con epoprostenol que en forma de infusión intravenosa continua; el treprostinin en infusión subcutánea continua; y el Bosentán por vía oral. El inhibidor de 5-fosfodiesterasa Sildenafil ofrece beneficios probados ⁽⁴⁵⁾. Terapias experimentales incluyen el péptido intestinal vasoactivo que mostró mejorar condiciones clínicas y hemodinámicas en un grupo de pacientes, el inhibidor de la Rho quinasa fasudil también está siendo probado. El Imatinib inhibidor de quinasa utilizado como antiangiogénico en malignidades produce mejoría en modelos animales de hipertensión arterial pulmonar ⁽⁴⁶⁾. El tratamiento con ciclofosfamida de la enfermedad pulmonar intersticial en pacientes con evolución clínica progresiva, con rápido deterioro de la función pulmonar radiológica y con

pruebas de función pulmonar (capacidad vital forzada y capacidad de difusión de monóxido de carbono) con resultados estadísticos significativos en los estudios aleatorizados realizados aunque con pobre traducción clínica ^(47,48,49). El micofenolato de mofetilo también ha demostrado en estudios ser una terapia alternativa a la ciclofosfamida con menos efectos adversos; con mejoría en la capacidad vital forzada e incluso no progresión o mejoría radiológica ^(50,51,52).

Las medidas de apoyo incluyen calcio-antagonistas del tipo de Nifedipino para el fenómeno de Raynaud, AINES para el tratamiento artralgias, productos humectantes para la piel, tratamiento precoz de la ulceraciones infectadas ⁽⁵³⁾. Los síntomas esofágicos se tratan con medidas de higiene (evitar comidas grandes y ropa ajustada), así como el uso de inhibidores de bomba de protones, antiH2, uso de oxígeno en hipertensión pulmonar severa.

La clave para controlar la afectación renal de la esclerodermia es su reconocimiento precoz y el tratamiento intensivo de la hipertensión acelerada acompañante.

OBJETIVO

La esclerosis sistémica, es una enfermedad poco común, se han estudiado mecanismos fisiopatológicos dentro de los cuales destaca la asociación con algunos alelos de HLA en poblaciones específicas. Nosotros investigamos la asociación de alelos HLA y esclerosis sistémica en población mestiza mexicana.

MATERIAL Y METODOS

Población de estudio.

Pacientes. Todos pacientes incluidos en la muestra cumplieron los criterios de clasificación del Colegio Americano de Reumatología para esclerosis sistémica. Un total de 14 pacientes con esclerosis sistémica obtenidos de la consulta externa de Reumatología del hospital Juárez de México y 49 sujetos donadores sanos de riñón vivo relacionado provenientes del laboratorio de histocompatibilidad del hospital Juárez de México, todos de origen mestizo mexicano fueron estudiados para determinar los alelos HLA relacionados con esclerosis sistémica. De los 14 pacientes 6 originarios del Distrito Federal, 3 del Estado de México, 2 de Hidalgo, 2 de Chiapas y 1 de Morelos. De los 14 pacientes todos mujeres, 8 tenían esclerosis sistémica limitada y 6 esclerosis sistémica limitada

Recolección y procesamiento de muestras.

Se realizó para este estudio la toma de una muestra de sangre periférica de los pacientes clasificados como (casos), posterior a la elaboración de la historia clínica y firma del consentimiento informado,

La determinación del HLA se realizó por medio de la técnica de SSP-PCR, (Sequence Specific Primer-Polymerase Chain Reaction), utilizando las placas comerciales para determinación alélicas del HLA ABDRDQ-SSP de la marca *invitrogen* (Wisconsin, USA) ^(54, 55,56).

En primer lugar se realizó la extracción del DNA a partir de las células mononucleadas, la lisis de glóbulos rojos y blancos, una vez realizada esta lisis, se precipitaron las proteínas solubles para que el DNA obtenido cumpliera los parámetros de pureza y concentración requeridos para este estudio; finalmente se almacenó el DNA obtenido a -20°C hasta su utilización.

NOTA: TODO DEBE SER MANEJADO CON GUANTES

A) Lisis:

l) De sangre periférica fresca:

1. Tomar 30 ml de sangre periférica, mezclarlo con 3 o 5 ml de EDTA (Mg_2Cl_2 , Tris, pH = 6 y 0.5 M) al 5% (No con heparina porque inhibe las enzimas de restricción).

2. Centrifugar a 3,000 rpm durante 10 – 15 min a 4° C.
3. Tomar la capa de glóbulos blancos (buffy coat) de la superficie del paquete (sin importar que haya eritrocitos) y pasarla a un tubo de 10 – 15 ml.
4. Llenar el tubo con 8 a 10 ml de amortiguador de lisis para glóbulos rojos (RCLB), mezclar cuidadosamente.
5. Centrifugar 15 min a 3000 rpm a 4 °C.
6. Eliminar el sobrenadante de los eritrocitos lisados.
7. Añadir nuevamente 8 a 10 ml de RCLB.
8. Centrifugar 15 min a 3000 rpm a 4 °C.
9. Descartar el sobrenadante.
10. El botón de células blancas resultante puede ser congelado del modo habitual a –196 °C en N₂ líquido, si se conserva a –70°C, la extracción del DNA se deberá hacer en el lapso no mayor de un mes.
11. Resuspender el botón de leucocitos en 1 ml de SSC 1X.

12. Añadir el amortiguador de lisis para glóbulos blancos (WCLB), 4 ml.
13. Dejar incubando toda la noche a 53°C en baño maría, si es posible utilizar un agitador rotatorio (50 rpm).
14. Después de este paso utilizar el protocolo de extracción de fenol-cloroformo.

II) De líneas celulares y linfocitos congelados:

1. Tomar 300 a 350 x10⁶ células en un tubo de 50 ml.
2. Resuspender en 2 ml de RPMI o PBS.
3. Añadir WCLB hasta 15 ml.
4. Incubar a 42 °C toda la noche en baño maría.

B) Extracción con fenol/cloroformo:

1. Añadir un volumen equivalente (V/V) de una solución con fenol saturado.
2. Agitar 10 min manualmente de manera suave hasta obtener una emulsión completa.

3. Centrifugar 15 min a 3000 rpm a 4°C.
4. Colocar los tubos en hielo al terminar la mezcla.
5. Tomar la fase superior y pasarla a un tubo limpio (**Cuidado de no tomar la interfase**).
6. Hacer una segunda extracción con fenol saturado, de la misma manera.
7. Pasar la fase superior a un tubo limpio.
8. Hacer dos extracciones con fenol/cloroformo (V/V) centrifugando 15 min. a 3,000 rpm a 4°C.
9. Pasar la fase superior a un tubo limpio.
10. Hacer una última extracción con cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) (V/V).
11. Centrifugar 15 min a 3,000 rpm a 4°C.
12. Pasar la fase superior a un tubo nuevo.

NOTA:

Los materiales utilizados para la extracción deben ser polivinil que es resistente al fenol y al cloroformo. No se recomienda usar tapones de hule porque son susceptibles a la acción de estos solventes e interfieren con la pureza del DNA.

Todos los materiales que se utilicen deben ser esterilizados previamente para evitar la presencia de nucleasas y de ser posible trabajar con guantes durante el proceso de extracción.

Es importante también que la pureza de los reactivos sea muy alta porque si no es así la calidad del DNA disminuye, o puede ser degradado.

El fenol debe de ser bidestilado en el laboratorio si no es posible obtenerlo de Carlo Erba o de BRL (ultrapuro).

C) Precipitación con etanol absoluto:

1. Añadir NaCl 3M o 5M para obtener una concentración final de 100 mM.
2. Adicionar 2 volúmenes de etanol absoluto a -20°C .
3. Agitar suavemente hasta que se forme un precipitado blanco. La precipitación terminará cuando el precipitado flote (DNA).

4. El DNA flotante puede recogerse con una varilla de vidrio y sacándola en etanol al 70% a -20°C .

5. Se deja secar en la varilla colocándola invertida (con el DNA hacia arriba).

6. Cuando ya no hay exceso de etanol, se resuspende en 1ml de TE (Tris 1mM, EDTA 0.1mM filtrado con 0.22 μm) dejando la punta de la varilla con el DNA dentro del TE del tubo y retirándola cuidadosamente cuando el DNA empieza a hidratarse y resbala de la varilla.

7. Para el DNA se resuspenda completamente puede dejarlo 2 ó 3 días a 4°C ó varias horas en agitación continua a 65°C .

8. Para obtener la concentración del DNA se lee a 2670 nm. La lectura se multiplica por 50 y se expresa en $\mu\text{g} / \text{ml}$. Puede leerse todo el DNA o hacer una dilución (1:100 ó 1:50).

D) Precipitación con isopropanol:

El isopropanol no precipita al RNA y de esta manera evita que interfiera en la literatura de la densidad óptica del DNA.

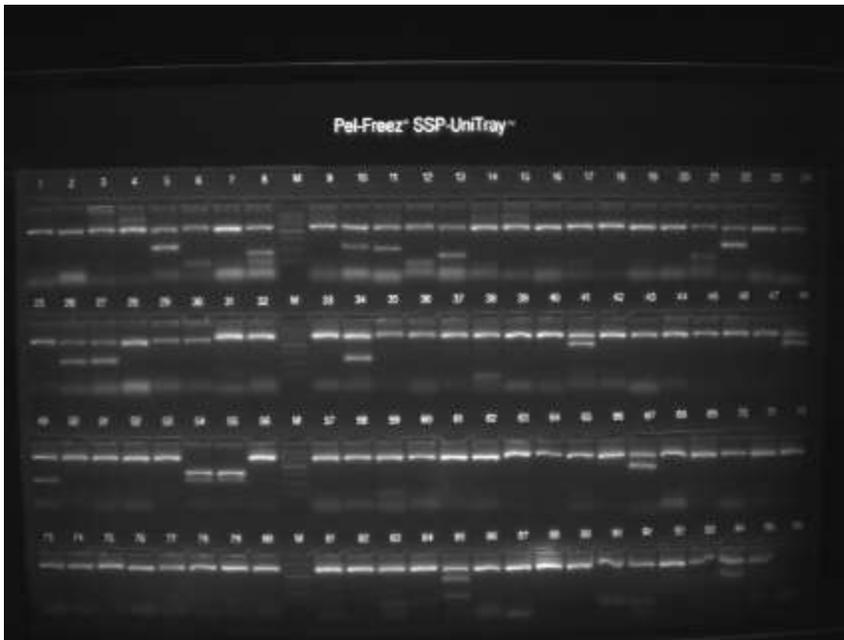
1. Al DNA extraído en 5 ml de solución se le agregan 170 μ l de NaCl 3 M ó 120 μ l de NaCl 5M para obtener una concentración final 100 mM, más un volumen de isopropanol absoluto.
2. Se agita suavemente durante 20 min. hasta que se precipite el DNA.
3. Seguir como en el protocolo de precipitación con etanol absoluto

El siguiente paso fue la preamplificación de los productos de PCR, que se realizó utilizando el kit de ABDRDQ de invitrogen adicionando al master-mix/ PCR el DNA y la enzima Taq polimerasa, en los 96 pozos, bajo flujo laminar. La amplificación de los productos de PCR, se realizó utilizando un protocolo estándar de 35 ciclos, en el termociclador (Nyxtechnik).

Por último la visualización de los productos de PCR obtenidos se observó en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio 2%, se transfirieron al fotodocumentador para su análisis y asignación alélicas; ambos pasos fueron realizados en el fotodocumentador y software (Dolphin doc). (Figura 1)

Los alelos HLA presentes en cada paciente fueron incluidos para su análisis estadístico, donde constatando la presencia de los distintos antígenos, se realizaron las tablas de frecuencia comparando alelos HLA en pacientes controles sanos y pacientes con esclerosis sistémica mestizos mexicanos.

Figura 1. Gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio



El gel muestra la amplificación de los productos de PCR de un paciente de esclerodermia (muestra representativa)

RESULTADOS

Resultados. Alelos HLA y susceptibilidad a esclerosis sistémica. Los alelos HLA fueron determinados en pacientes con esclerosis sistémica y controles sanos mestizos mexicanos reclutados de población del centro y bajo del país derechohabiente al hospital Juárez de México. Se comparo la frecuencia de alelos

en controles sanos y pacientes con esclerosis sistémica. Se estudiaron un total de 63 pacientes, de los cuales 49 fueron controles sanos y 14 pacientes con esclerosis sistémica. Se encontró incremento en frecuencia de alelos HLA-A*0201 en 42.8% (6 pacientes) de los pacientes con esclerosis sistémica contra 20.4% (10 controles), HLA-DQB1*0501 28.57% (4 pacientes) 12.24% (6 controles), DQB1*0201 35.71% (5 pacientes) contra 24.4% (12 pacientes) (Tabla 1). Para los 14 pacientes con esclerosis sistémica mestizos mexicanos contra 49 controles sanos, el OR fue 2.92 para HLA-A*0201 (P = NS), 2.86 para HLA-DQ*0501 (P = NS) y 1.71 para DR*0201 (P = NS). (Tabla 2). Los 14 pacientes con esclerosis sistémica de sexo femenino, 8 de los cuales correspondieron con esclerosis sistémica limitada (lcSSc) y 6 con esclerosis sistémica difusa (dcSSc). En nuestra muestra se encontró incremento en la frecuencia del alelo HLA-DRB1*0101 con 21.42% (3 pacientes) en pacientes con la forma limitada de la enfermedad contra 7.14% (1 paciente) para esclerosis sistémica difusa.

Tabla 1. FRECUENCIA EN PORCENTAJES DE ALELOS HLA EN POBLACION MESTIZA MEXICANA EN CONTROLES SANOS Y PACIENTES CON ESCLEROSIS SISTEMICA

| Alelo HLA | Controles (%) (n=49) | Pacientes con esclerosis sistémica (%) (n=14) |
|-----------|-------------------------|--|
| A*0201 | 20.4 | 42.8 |
| A*2402 | 12.24 | 21.4 |
| DRBI*0101 | 14.2 | 28.57 |
| DRB1*0401 | 26.5 | 28.57 |
| DRB1*1601 | 0 | 21.42 |
| DRB1*1105 | 2.04 | 7.14 |
| DRB1*1109 | 2.04 | 7.14 |
| DQB1*0201 | 24.4 | 35.71 |
| DQB1*0501 | 12.24 | 28.57 |
| DQB1*0601 | 24.4 | 21.42 |

Tabla 2. OR PARA LOS ALELOS HLA ENCONTRADOS EN LA MUESTRA DE PACIENTES MESTIZOS MEXICANOS DE LA CONSULTA EXTERNA DE REUMATOLOGIA DEL HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO

| HLA | OR | IC 95% | X ² | P |
|------------------|-------------|-----------------------|----------------|-----------|
| A*0201 | 2.92 | (0.82 a 10.3) | 1.83 | NS |
| DQB1*0501 | 2.86 | (0.67 a 12.10) | 0.28 | NS |
| DQB1*0201 | 1.71 | (0.48 a 6.11) | 0.24 | NS |

HLA- Antígeno principal de histocompatibilidad. OR- razón de momios. IC- Intervalo de confianza. X²- chi cuadrada. NS- valores no significativos

DISCUSION

La esclerosis sistémica es una enfermedad poco común con prevalencia mundial distinta entre los diferentes grupos raciales, se han determinado alelos del complejo principal de histocompatibilidad específicos asociados para cada población ^(7,15). En nuestra muestra encontramos alelos que se han reportado como asociaciones consistentes, tal es el caso de HLA-DR5 (DRQB1*0501, DQB1*0301) y DR3 (DQB1*0201) en caucásicos y americanos ^(7,10,11,12,15,16,19,20), el HLA-DR2 (DQB1*0601) en japoneses ⁽¹³⁾ y DR2 (DQB1*0301) en indios Choctaw ^(7,14,16). La correlación entre marcadores en el complejo principal de histocompatibilidad y la presencia de autoanticuerpos es conocida y las más descritas incluyen: HLA DRB1*1101, *1104, *1502, DQB1*0301, *0601 y DPB1*1301 con la presencia de anticuerpos anti-topoisomerasa (ATA) ^(7,16); HLA DRB1*0101 y DQB1*0501 con anticentrómero y HLA-DQB1*0201 con anti-RNA polimerasa ^(7,16,17). En nuestra serie encontramos asociación de anticuerpos anticentrómero con los alelos DRB1*0101 y DQB1*0501, reproduciendo los reportes de estudios realizados previamente en población caucásica y japonesa respectivamente. Por otro lado se encontró el alelo DQB1*0201 con mayor frecuencia, sin embargo, no se cuenta con el reporte de anticuerpos anti-RNA polimerasa de los 5 pacientes correspondientes.

El alelo DQB1*0201 se ha asociado a hipertensión pulmonar ⁽⁷⁾. En nuestra muestra la hipertensión pulmonar se presentó en 6 pacientes de los cuales 4 tenían la forma limitada de la enfermedad y 2 la forma difusa; se encontró asociación con los alelos DQB1*0201 en 2 casos (un paciente con esclerosis sistémica limitada y un con esclerosis sistémica difusa) y DQB1*0601 en otros 2 casos (un paciente con esclerosis sistémica limitada y un con esclerosis sistémica difusa). En el único estudio realizado en población mestiza mexicana de HLA y esclerosis sistémica, se reportó asociación con HLA-DRB1*1104, contrario a lo informado ⁽¹⁸⁾, en nuestra muestra encontramos incremento en la frecuencia en alelos HLA-A*0201, HLA-DQB1*0501 y DQ*0201, no se identificó en ningún paciente el alelo HLA-DRB1*1104.

En nuestro estudio proponemos a los alelos DQB1*0501 y DQB1*0201 como asociados a esclerosis sistémica en mestizos mexicanos, contrario a lo reportado previamente, para lo cual se requiere una muestra mayor a la evaluada. La muestra de pacientes que incluimos en el estudio es limitada por lo que nos impide emitir algún juicio, asimismo podemos encontrar sesgo en la selección, ya que por factibilidad (costos) se tomaron los controles sanos de donadores de riñón vivos relacionados y no de una población abierta.

CONCLUSIONES

Existe una posible asociación entre los alelos HLA-A*0201, HLA-DQB1*0501 y DQB1*0201 con esclerosis sistémica en pacientes mestizos mexicanos.

El alelo HLA-DQB1*0501 se asoció con anticuerpos anticentrómero en nuestra muestra de mestizos mexicanos.

RESUMEN

La esclerosis sistémica es una enfermedad de tejido conectivo multisistémica que afecta piel y órganos internos, con fuerte impacto en la calidad de vida de los pacientes, ya que las modalidades de tratamiento son poco efectivas. La prevalencia mundial reportada es de 28-248 por millón. Se desconoce la causa de la enfermedad y dentro de los factores asociados destacan la predisposición genética con diferentes alelos del HLA asociados en los diferentes grupos poblacionales.

En nuestra muestra de pacientes mestizos mexicanos con esclerosis sistémica se presentó asociación probable con los alelos HLA-A*0201, HLA-DQB1*0501 y DQB1*0201, se requiere un mayor número de pacientes para confirmarlo. El alelo HLA-DQB1*0501 se asoció con anticuerpos anticentrómero.

BIBLIOGRAFIA

1. Arnett FC. HLA AND AUTOIMMUNITY IN SCLERODERMA. *Int Rev Immunol* 1995; 12(2) 107-128
2. Tristram G. Parslow, Daniel P. Stites y cols. INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA. 10a. Edition 2002. Manual modern 73-107
3. Ivan Roitt, Jonathan Brostoff, Davis Male. INMUNOLOGIA. 4a. Edition, 1998. Harcourt Brace 5.1-5.10
4. Kenneth Morphy, Paul Travers, Mark Walport. INMUNOBIOLOGIA DE JANEWAY. 7a. edición. 2009. McGraw-Hill Interamericana editors S.A. de C.V. 125 -139 y 196-213
5. Firestein. TEXT BOOK OF PRINCIPLES OF RHEUMATOLOGY, 8va. Edición, 2008 W.B, Saunders Company 1293-1317.

6. Mayes MD. SCLERODERMA EPIDEMIOLOGY. *Rheum Dis Clin North Am* 2003 May;29(2): 239-54.
7. Sandeep K, Agarwal, MD, Filemon K, Tan, MD, Frank C, Arnett, MD. GENETICS AND GENOMICS STUDIES IN SCLERODERMA (SYSTEMIC SCLEROSIS). *Rheum Dis Clin N Am* 2008 34 17-40.
8. Feghali-Bostwick C, Medsger TA Jr, Wright TM. ANALYSIS OF SISTEMIC SCLEROSIS IN TWINS REVEALS LOW CONCORDANCE FOR DISEASE ANG HIGH CONCORDANCE FOR THE PRESENCE OF ANTINUCLEAR BODIES. *Arthritis Rheum* 2003 48 (7) 1956-1963
9. Arnett FC, Howard RF Tan F, et al. INCREASED PREVALENCE OF SYSTEMIC SCLEROSIS IN A NATIVE AMERICAN TRIBE IN OKLAHOMA. ASSOCIATION WITH AMERINDIAN HLA HAPLOTIPE. *Arthritis Rheum* 1996; 39(8) 1362-1370
10. Tan FK, Arnett FC. GENETIC FACTORS IN THE ETIOLOGY OF SYSTEMIC SCLEROSIS AND RAYNAUD PHENOMENON. *Cur Opinion Rheumatol* 2000;12:511-9.
11. Gladman DD, Kung TN, Siannis F, Pellett F, Farewell VT, Lee P. HLA FOR SUSCEPTIBILITY AND EXPRESSION IN SCLERODERMA. *J Rheumatol* 2005;32:1481-7
12. Loubiere LS, Lambert NC, Madeleine MM, Porter AJ, Mullarkey ME, Pang JM et al. HLA ALLELIC VARIANTS ENCODING DR11 IN DIFFUSE AND LIMITED SYSTEMIC SCLEROSIS IN CAUCASIAN WOMEN. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:318-22
13. Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Inoko H, Tsuji K. THE HLA-DR AND DQ GENES CONTROL THE AUTOIMMUNE RESPONSE TO DNA TOPOISOMERASE I IN SYSTEMIC SCLEROSIS (SCLERODERMA) *J Clin Invest* 1993;92:1296-301
14. Tan FK, Stivers DN, Arnett FC, Chakraborty R, Howard R Roveille JD. HLA HAPLOTYPES AND MICROSATELLITE POLYMORPHISMS IN AND AROUND THE MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX REGION IN A NATIVE AMERICAN POPULATION WITH A HIGH PREVALENCE OF SCLERODERMA (SYSTEMIC SCLEROSIS) *Tissue Antigens*1999;53:74-80

15. Lambert NC, Distler O, Muller-Ladner U, et al HLA-DQA1* 0501 IN ASSOCIATED WITH DIFUSE SYSTEMIC SCLEROSIS IN CAUCASIAN MEN. *Arthritis Rheum* 2000; 43 (9) 2005-2010
- 16 . Franck C Arnett, Pravitt Gourh, SanjayShete et al. MAJOR HISTOCOMPATIBILITY (MHC) CLASS II ALLELS, HAPLOTYPES, EPITOPES WICH CONFER SUSCEPTIBILITY FOR PROTECTION IN THE FIBROSING AUTOIMMUNE DISEASE SYSTEMIC SCLEROSIS: ANALYSES IN 1300 CAUCASIAN, AFRO-AMERICANS AND HISPANIC CASES AND 1000 CONTROLS. *Ann Rheum Dis* Published online 12-Jul-2009; doi 10: 1136/ard.2009.111906
17. Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, et al. THE HLA-DR AND DQ GENES CONTROL THE AUTOINMUNE RESPONSE TO DNA TOPOISOMERASE I IN SYSTEMIC SCLEROSIS (SCLERODERMA) *J Clin Invest* 1993; 93(3) 1296-1301
18. Vargas-Alarcón G, Granados J, Ibáñez de kasep G, et al. ASSOCIATION OF HLA-DR5 (DR11) WITH SYSTEMIC SCLEROSIS (SCLERODERMA) IN MEXICAN PATIENTS. *Clin exp Rheumatol* 1995 13: 11-16
19. Fanning GC, Welsh KI, Bunn C, et al. HLA ASSOCIATIONS IN TRHEE UTUALLY EXCLUSIVE AUTOANTOBODY SUBGROUPS IN UK SISTEMIC SCLEROSIS PATIENTS. *Br J Rheumatol* 1998; 37(2):201-207
20. Masataka Kuwana, Junichi Kaburaki, Frank C. Arnett, Robert F. Howard, Thomas A. Medsger, Jr., and Timothy M. Wrih INFLUENCE OF ETHNIC BACKGROUND ON CLINICAL ANDSEROLOGIC FEATURES IN PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLEROSISAND ANTI-DNA TOPOISOMERASE I ANTIBODY *Arthritis and Rheumatism* 1999 42: 465-474
21. Hutyrova B, Lukac J, Bosak V, et al. INTERLEUKIN 1ALPHA SINGLE-NUCLEOTIDE POLYMORPHISM ASSOCIATED WITH SYSTEMIC SCLEROSIS. *J Rheumatol* 2004;31(1) :81-4
22. Mattuzzi S, Barbi S, Carletto A, et al. ASSOCIATION OF POLYMORPHISMS IN THE IL1B AND IL2 GENES WITH SUSCEPTIBILITY AND SEVERITY OF SYSTEMIC SCLEROSIS. *J Rheumatol* 2007;34(5) : 997-1004.
23. Kadono T, Kikuchi K, Ihn H, et al. INCREASED PRODUCTION OF INTERLEUKIN 6 AND INTERLEUKIN 8 IN SCLERODERMA FIBROBLASTS. *J Rheumatol* 1998;25(2) :296-301

24. Distler O, Rinkes B, Hohenleutner U, et al. EXPRESSION OF RANTES IN BIOPSIES OF SKIN AND UPPER GASTROINTESTINAL TRACT FROM PATIENTS WITH SYSTEMIC SCLEROSIS. *Rheumatol Int* 1999;19(1-2):39-46
25. Launardi C, Bason C, Nabone R, et al. SYSTEMIC SCLEROSIS IMMUNOGLOBULIN G AUTOANTIBODIES BIND THE HUMAN CYTOMEGALOVIRUS LATE PROTEIN UL94 AND INDUCE APOPTOSIS IN HUMAN ENDOTHELIAL CELLS. *Nat Med* 2000; 6: 1183
26. Bramwell B, DIFFUSE SCLERODERMA: IT'S FREQUENCY; ITS OCCURRENCE IN STONEMASONS; ITS TREATMENT BY FIBROLYSIN-ELEVATIONS OF TEMPERATURE DUE TO FIBROLYSIN INJECTIONS. *Edinburgh Med J* 1914; 387
27. Tan FK, Zhou X, Mayes MD, et al. SIGNATURES OF DIFFERENTIALLY REGULATED INTERFERON GENE EXPRESSION AND VASCULOTROPHISM IN THE PERIPHERAL BLOOD CELLS OF SYSTEMIC SCLEROSIS PATIENTS. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45(6): 694-702
28. Rodnan GP, Myerowitz RL, Just GO. MORPHOLOGIC CHANGES IN THE DIGITAL ARTERIES OF PATIENTS WITH PROGRESSIVE SYSTEMIC SCLEROSIS AND RAYNAUD PHENOMENON. *Medicine* 1980 59: 393.
29. Munves EF, Schur PH. ANTIBODIES Sm AND RNP: PROGNOSTICATORS OF DISEASE INVOLVEMENT. *Arthritis Rheum* 1983 26: 848
30. Degiannis D, Seibold JR et al. SOLUBLE AND CELULAR MARKERS OF IMMUNE ACTIVATION IN PATIENTS WITH SISTEMIC SCLEROSIS. *Clin Immunol Immunopathol.* 1990 56: 259
31. Blocka KLN, Basset LW et al. THE ARTHROPATHY OF ADVANCED PROGRESSIVE SISTEMIC SCLEROSIS: A RADIOGRPHIC SURVEY. *Arthritis Rheum* 1981 24: 874
32. Zamost BJ, Hirschberg J, Ippoliti AF, et al. ESOPHAGITIS IN SCLERODERMA: PREVALENCE AND RISK FACTORS. *Gastroenterology.* 1987. 92:421
33. Clarke AK, Galbraith RM et al. RHEUMATIC DISORDERS IN PRIMARY BILIARY CIRRHOSIS. *Ann Rheum Dis* 1978 37:42

34. Ungerer RG, Tashkin DP et al. PREVALENCE AND CLINICAL CORRELATES OF PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION IN PROGRESSIVE SYSTEMIC SCLEROSIS. *Am J Med* 1983 75:65
35. Greenwald GI, Tashkin DP, et al. LONGITUDINAL CHANGES IN LUNG FUNCTION AND RESPIRATORY SYMPTOMS IN PROGRESSIVE SYSTEMIC SCLEROSIS. PROSPECTIVE STUDY.. *Am J Med* 1987. 83: 83
36. Kahan A, Allanore Y. PRIMARY MYOCARDIAL INVOLVEMENT IN SYSTEMIC SCLEROSIS. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45 (Suppl 4): iv14-iv17.
37. Lichbroun AS, Sandhaus LM, et al. MYOCARDIAL MAST CELLS IN SYSTEMIC SCLEROSIS: A REPORT OF THREE FATAL CASES. *Am J Med* 1990: 89: 372.
38. Steen VD, Medsger TA et al. FACTORS PREDICTING DEVELOPMENT OF RENAL INVOLVEMENT IN PROGRESSIVE SYSTEMIC SCLEROSIS. *Am J Med* 1984. 76:779
39. Gordon MB, Klein I, et al. THYROID DISEASE IN PROGRESSIVE SYSTEMIC SCLEROSIS: INCREASED FREQUENCY OF GLANDULAR FIBROSIS AND HYPOTHYROIDISM. *Ann Intern Med* 1981. 95: 431
40. Cipoletti JF, Buckingham RB, et al. SJÖGREN'S SYNDROME IN PROGRESSIVE SYSTEMIC SCLEROSIS. *Am Intern Med* 1977. 87:535
41. Peters-Golden M, Wise RA, et al. INCIDENCE OF LUNG CANCER IN SYSTEMIC SCLEROSIS. *J. Rheumatol* 1985. 12:1136.
42. Gruber BL, Kaufman LD. A DOUBLE-BLIND RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL OF KETOTIFEN VERSUS PLACEBO IN EARLY DIFFUSE SCLERODERMA. *Arthritis Rheum* 1991, 34:362.
43. Kahan A, Amor B, et al. RECOMBINANT INTERFERON GAMMA IN THE TREATMENT OF SYSTEMIC SCLEROSIS. *Am J Med* 1989. 87:283.
44. Steen VD, Owens GR, et al. THE EFFECT OF D-PENICILLAMINE ON PULMONARY FINDINGS IN SYSTEMIC SCLEROSIS. *Arthritis Rheum* 1985. 28:882.
45. Rich S, Kaufmann E, et al. THE EFFECT OF HIGH DOSES OF CALCIUM-CHANNEL BLOCKERS ON SURVIVAL IN PRIMARY PULMONARY HYPERTENSION. *N Eng Med* 1992.327:76.

46. Lewis J, Rubin MD. TREATMENT OF PULMONARY ARTERIAL HYPERTENSION DUE TO SCLERODERMA: CHALLENGES FOR THE FUTURE. *Rheum Dis Clin N Am* 34 (2008) 191–197
47. White B, Moore WC, Wigley FM, Xiao HQ, Wise RA. CYCLOPHOSFAMIDE IS ASSOCIATED WITH PULMONARY FUNCTION AND SURVIVAL BENEFIT IN PATIENTS WITH SCLERODERMA AND ALVEOLITIS. *Ann Intern Med* 2000; 132: 947-54
48. Tashkin D, Elashhoff R, Clements PJ, Goldin J et. Al. CYCLOPHOSFAMIDE VERSUS PLACEBO IN SCLERODERMA LUNG DISEASE. *N Engl J Med* 2006; 354: 2655-66
49. Tashkin D, Elashhoff R, Roth MD, Clements PJ, et al. EFFECTS OF 1 YEAR TREATMENT WITH CYCLOPHOSFAMIDE ON OUTCOMES AT 2 YEARS IN SCLERODERMA LUNG DISEASE. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 1026-34
50. Liossis S, Bounas A, Andonopoulos A, MYCOPHENOLATE MOFETIL AS FIRST-LINE TREATMENT IMPROVES CLINICALLY EVIDENT EARLY SCLERODERMA LUNG DISEASE. *Rheumatology* 2006; 45: 1005-8
51. Gerbino A, Goss C, Molitor JA. EFFECT OF MICOPHENOLATE MOPHETIL ON PULMONARY FUNCTION IN SCLERODERMA- ASSOCIATED INTERSTITIAL LUNG DISEASE. *Chest* 2008; 133: 455-60
52. Saketkoo L, Espinoza L, RHEUMATOID ARTHRITIS INTERSTITIAL LUNG DISEASE: MICOPHENOLATE MOFETIL AS AN ANTIFIBROTIC AND DISEASE MODIFYING ANTIRHEUMATIC DROUG. *Arch Intern Med* 2008; 47:552-3
53. Wigley FM, Wise RA, et AL. INTRAVENOUS ILOPROST INFUSION IN PATIENTS WITH RAYNAUD PHENOMENON SECONDARY TO SYSTEMIC SCLEROSIS: A MULTICENTER, PLACEBO-CONTROLLED, DOUBLE-BLIND STUDY. *Ann Intern Med* 1994. 120:199.
54. Danovitch GM. "TRASPALANTE RENAL" 3ª Ed; Marben, 2002, España.
55. Kissmeyer – Nielsen. "HISTOCOMPATIBILITY TECHNIQUES" 1ª Ed; 1979 Elsevier/North – Holland.
56. Mercuriali Z; "MANUAL DE HLA POR ONE LAMBDA" 1986, USA