

11262
2 ej 4

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**"Susceptibilidad Genética al Lupus Eritematoso Generalizado
en Familias de Pacientes Mestizos Mexicanos"**

TESIS

Que para obtener el Título de
MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

Presenta

Julio Granados Arriola

Director de Tesis: Dr. Jorge Alcocer Varela

México, D. F., a 14 de Agosto de 1989.

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Indice General

	Paginas
I.- Lupus Eritematoso Generalizado	(1)
II.- Patogénesis	(2)
III.- Etiología	(3)
IV.- Patología	(6)
V.- Epidemiología	(10)
VI.- Aspectos Genéticos	(16)
VII.- Material y Métodos	(23)
VIII.- Resultados	(29)
IX.- Discusión	(32)
X.- Bibliografía	(40)
XI.- Apéndice (Tablas y Figuras)	(48)

LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO

La causa del Lupus Eritematoso Generalizado sigue siendo desconocida, sin embargo, no hay duda de que en su patogenesis participan trastornos inmunologicos que finalmente llevan a dano tisular.

Las formas clinicas de esta enfermedad y el curso ulterior de ellas son extraordinariamente variables.

La característica mas importante del Lupus es la presencia de un sin numero de anticuerpos dirigidos contra muchos de los componentes nucleares, y tambien la caracterizan las anomalidades de las celulas que participan en la respuesta inmune (Deterioro de la funcion supresora y activacion policlonal de las celulas B).

Algunos pacientes con lupus tienen remisiones espontaneas de la enfermedad, otros requieren el uso de medicamentos inmunosupresores como los corticoesteroides y otro grupo de pacientes no responden adecuadamente a ninguno de los tratamientos con los que en la actualidad se dispone(1).

Tambien participan en la enfermedad agentes infecciosos probablemente de origen viral los que la desencadenan solo en ciertos individuos, lo que sugiere que probablemente exista un fondo de predisposicion genetica(2).

PATOGENESIS

El suero de los pacientes con Lupus contiene muchos autoanticuerpos, entre ellos estan los dirigidos contra el acido Desoxiribonucleico(anti-DNA), los anticuerpos antinucleoproteina, los anticuerpos antihistonas, asi como tambien otros muchos anticuerpos dirigidos contra los constituyentes nucleares. A todos estos anticuerpos se les conoce con el nombre generico de anticuerpos contra antigenos nucleares (ANA)(3).

Los anticuerpos antinucleares por si solos no son daninos, pero participan en la patogenesis del LEG debido a su tendencia a formar complejos antígeno-anticuerpo (ag-Ac).

Tanto, los antigenos como sus respectivos anticuerpos y tambien los componentes del sistema del complemento se depositan en la membrana basal glomerular y en la membrana basal vascular, sugiriendo dano directo de todos estos elementos.

Durante la fase activa de la enfermedad existe disminucion de los componentes del complemento, sugiriendo que son consumidos a mayor velocidad de lo que son sintetizados ya que son captados por los complejos inmunes, estos a su vez pueden detectarse tanto en el suero como en los tejidos mediante tecnicas adecuadas.

Por todo esto, se dice que el LEG es una enfermedad por complejos inmunes (4).

ETIOLOGIA

Se desconocen las causas por las cuales se desarrollan en el lupus los anticuerpos que le son característicos. También se desconoce el origen de los antígenos en las lesiones tisulares, estos últimos se piensa que son componentes nucleares autólogos pero no se descarta que puedan originarse de microorganismos invasores.

La hipótesis de que el LEG resulta de una infección viral en individuos genéticamente predispuestos se apoya en varias observaciones, la más fuerte de las cuales deriva de los estudios del modelo de lupus experimental en los ratones de la primera filial (F1) del híbrido NZB-NZW, (negro de Nueva Zelanda y blanco de Nueva Zelanda).

Estos ratones desarrollan anticuerpos antinucleares, anticuerpos anti-DNA, disminución de los niveles séricos de complemento y también lesiones renales muy parecidas a las que ocurren en el humano. El estudio de los riñones de estos ratones demuestra depósitos de complejos inmunes de DNA y anti-DNA (5).

También existen modelos en otras especies animales, por ejemplo ciertos perros también desarrollan una enfermedad que es semejante al lupus humano y en ellos se han identificado virus tipo C, apoyando nuevamente la teoría viral.

Si se estudian los rinones de los pacientes con lupus mediante microscopia electronica, se encuentra que en muchos casos existen estructuras citoplasmicas tubuloreticulares semejantes a virus, localizadas en las celulas endoteliales del glomerulo. Inicialmente se penso que estas estructuras eran en efecto virus, pero ahora se sabe que representan respuestas muy peculiares de dano celular.

Sin embargo este tipo de inclusiones no son especificas de lupus ya que tambien se ven en otras enfermedades renales aunque con menor frecuencia. Tanto en el lupus humano como en el modelo murino experimental se identifican trastornos de la inmunoregulacion representadas por deterioro de la funcion de las celulas T supresoras y por activacion policlonal de las celulas B (6).

Estas alteraciones de la funcion de las celulas T y B pueden ser las responsables de que se formen toda la multitud de anticuerpos contra los componentes intracelulares.

La predisposicion genetica al lupus se sustenta en el hecho de que los familiares sanos tienen tambien alteraciones inmunologicas como las de los pacientes, aunque desde luego en menor grado; la base genetica se apoya tambien en que la concordancia para lupus en gemelos monocigotos es mayor que en la de dicigotos y desde luego que en la poblacion general.

En contraposición a esta participación genética está el hecho de que los familiares que conviven con el enfermo en la misma casa habitación tienen una alta prevalencia de anticuerpos antilinfocíticos y esto ocurre aun en familiares no consanguíneos.

Por otro lado también se conoce que el lupus puede presentarse en personas que tienen deficiencias genéticas de algunos componentes del complemento (C1, C4, C2); esta relación apoya también el fondo genético (7).

PATOLOGIA

Los cambios patológicos dependen del estado de la enfermedad; estos se caracterizan por depósitos fibrinoides en la pared de los vasos sanguíneos, en las fibras de colágena y en las superficies serosas.

Existen unas masas oblongadas, redondas situadas en las áreas de inflamación que se conocen como cuerpos hematoxilínicos (ya que se identifican con esta tinción), los cuales son específicos de lupus. Se piensa que representan núcleos degenerados que interactuaron con anticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares.

Las lesiones en el riñón son de varios tipos; una de ellas es la glomerulonefritis focal, otra es la forma difusa y finalmente otra es la nefritis lúpica membranosa (8).

En la focal la lesión se caracteriza por afección de los glomerulos con hiper celularidad localizada, acumulo de células inflamatorias y engrosamiento de la membrana basal; con el microscopio de inmunofluorescencia se detectan depósitos de inmunoglobulinas y de C3 en el mesangio.

En la forma difusa existen los mismos cambios pero abarcan a todos los glomerulos aunque en forma irregular; la membrana basal esta considerablemente engrosada y en la microscopia de inmunofluorescencia los depositos de inmunoglobulinas y de C3 tienen la forma de depositos densos. Con el microscopio electronico se detectan depositos electrodensos en todo el lado endotelial de la membrana basal y en el mesangio.

En la nefritis membranosa no existe hiper celularidad, la membrana basal esta engrosada en forma difusa; con el microscopio de inmunofluorescencia se detectan depositos granulares de inmunoglobulinas y de C3 a todo lo largo de la membrana basal. Con el microscopio electronico estos depositos se encuentran en el lado epitelial de la membrana basal y tambien dentro de la misma membrana basal.

No se han podido precisar los mecanismos que establecen los diferentes tipos de dano renal.

Estas alteraciones pueden presentarse en pacientes con lupus con examen urinario normal y con funcion renal tambien normal, aunque desde luego en minima expresion; cuando esto es asi, el curso clinico es en muchos casos hacia el establecimiento indefectible de la nefropatia; por lo tanto es importante tener en cuenta el curso evolutivo que puede tener una lesion renal.

Ademas del dano glomerular los complejos inmunes pueden producir nefritis intersticial. Mas de la mitad de las biopsias de pacientes con lupus muestran infiltrados celulares intersticiales, ya sea focales o difusos, con dano tubular y fibrosis. Tambien existen depositos de inmunoglobulinas, de componentes del complemento, y hasta depositos electrodensos en la membrana basal tubular y en el intersticio sugiriendo que en este sitio tambien los complejos inmunes iniciaron la lesion.

Esta forma de nefritis intersticial por complejos inmunes es mas comun en pacientes con glomerulonefritis proliferativa difusa que en las otras formas de nefropatia.

En la piel, las lesiones eritematosas de distribucion tipica en "alas de mariposa" que aparecen en la cara tienen en una etapa temprana de inflamacion perivascular ligera, con edema y extravasacion de globulo rojos ; en las lesiones cronicas existe hiperqueratosis, atrofia epidermica e inflamacion de los pequenos vasos de la dermis, la cual esta edematosa e infiltrada en forma variable con linfocitos, celulas plasmaticas e histiocitos. El microscopio de inmunofluorescencia muestra depositos de IgG y de C3 en la union dermoepidermica.

El mecanismo por el cual se desarrollan estos depositos tampoco esta claro, pero vale decir que en dichos depositos se han identificado anticuerpos contra antigenos nucleares e incluso anticuerpos anti-DNA (9).

En muchos otros organos puede existir ademas vasculitis de pequenos vasos, en el sinovio por ejemplo esta se acompaña de infiltración mononuclear y polimorfonuclear.

Cuando existe participación del sistema nervioso central muchas areas del cerebro presentan vasculitis necrotizante de arteriolas y capilares y ademas microinfartos.

Algunos pacientes llegan a tener abundantes depositos de inmunoglobulinas y de C3 en la membrana basal de los vasos de los plexos coroides (10).

En el Bazo la lesion se caracteriza por proliferación de la capa intima de las arterias centrales y penicilares, dando la apariencia que se conoce como en "capas de cebolla".

En el corazon, las valvulas y los cordones tendinosos se ven afectados por lesiones verucosas que no son de origen bacteriano y que se conocen como Endocarditis del Libman-Sacks.

EPIDEMIOLOGIA

Los siguientes son los criterios de clasificación para el Lupus Eritematoso Generalizado formulados por la Asociación Americana de Reumatología (ARA) establecidos en 1982 (11):

1. Eritema malar
2. Eritema discoide
3. Fotosensibilidad
4. Ulceras orales
5. Artritis
6. Serositis
7. Nefropatía
8. Trastornos neurológicos
9. Trastornos Hematológicos
10. Trastornos Inmunológicos
11. Anticuerpos antinucleares

Si una persona tiene 4 o más de cualquiera de estos 11 criterios ya sea simultáneamente o en diferentes intervalos de tiempo, el diagnóstico de LEG tiene 96% de sensibilidad y 96% de especificidad.

Incidencia y prevalencia

La tabla 1 resume los resultados epidemiológicos de diversos estudios en diferentes poblaciones.

El estudio de New York efectuado en 1956 (12) calculo 30 casos nuevos por cada millon de habitantes. Otro estudio efectuado en la ciudad de San Francisco (13) calculo que la incidencia es de 74 casos por cada millon de habitantes , este mismo calculo que la prevalencia es de un caso por cada 700 mujeres de raza blanca entre los 15 y 64 años de edad y de un caso por cada 245 mujeres de raza negra en el mismo rango de edad.

En otros grupos raciales la enfermedad tambien es frecuente por ejemplo en habitantes de las islas Oahu y de las islas Hawaii se encontro que la prevalencia del LEG en individuos de origen chino, filipino y japones es 3 veces mayor que la de los individuos de raza blanca(14).

Es muy interesante el hecho de que en las tribus de indios Grow y Arapahoe de Norteamerica, la incidencia de la enfermedad es de 100 por millon y en la tribu Sioux es de 313 por millon (15); sin embargo estos datos de comunidades indigenas deben tomarse con mucha reserva ya que han sido obtenidos estudiando pocos individuos.

No esta muy claro si la nocion de aumento en la incidencia mundial de la enfermedad se debe a mejores metodos diagnosticos o al incremento real de la frecuencia del LEG.

La distribución mundial del Lupus sugiere que la patogénesis y la etiología son multifactoriales .

Edad, raza y distribución por sexo

Las mujeres son con mucho más susceptibles al LEG que los hombres; la incidencia de la enfermedad es muy alta al inicio de la segunda década de la vida, alcanza su máximo en la tercera década, permanece elevada durante la edad reproductiva y disminuye ostensiblemente desde los 45 años .

En contraposición a lo señalado para las mujeres, en los hombres no existe variación de la incidencia con respecto a la edad.

En todas las edades la proporción de mujeres con respecto a hombres es de 5 a 1, aunque es ligeramente mayor en la edad reproductiva y ligeramente menor por debajo de los 12 años de edad.

El embarazo y el puerperio en algunos casos son el momento en el que la enfermedad se presenta, y en otros casos coincide con periodos de exacerbación (16). Todos estos datos sugieren que la maduración hormonal matiza la expresión del Lupus Eritematoso Generalizado (17).

Factores hereditarios

Los aspectos hereditarios se apoyan en la existencia de lo que se conoce como agregacion familiar de LEG, lo que se traduce en familias nucleares donde mas de un individuo esta afectado; pero debe tenerse precaucion al manejar estos datos ya que deben confirmarse con otros acerca de la frecuencia de la enfermedad en la poblacion de la cual derivan esas familias

De cualquier manera, la gran cantidad de familias con casos multiples sugiere que en ellas, la ocurrencia de la enfermedad es mayor que la esperada por azar; y desde luego sugiere que existen factores geneticos en la etiologia del lupus (18).

Otro dato que sugiere la participacion de factores geneticos es el hecho ya mencionado de que los familiares sanos de los pacientes con lupus tienen anticuerpos antilinfociticos y deterioro de la funcion de las celulas T supresoras.

Sin embargo, no hay que olvidar que aun cuando estos datos representan defectos en la inmunoregulacion no necesariamente llevan al desarrollo de la enfermedad.

El estudio de los factores hereditarios puede precisarse empleando marcadores geneticos como los de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, los del receptor de las celulas T y los de los genes del sistema principal de Histocompatibilidad (MHC) (19).

Aspectos ambientales y Socioeconomicos

La frecuencia de Lupus no parece modificarse con la calidad de la casa habitacion o con el numero de personas que la ocupan ; por otro lado se conoce que el personal de laboratorio que maneja sueros de pacientes con lupus tienden a presentar anticuerpos antilinfociticos mas que las personas que trabajan con otro tipo de sueros.

Con respecto al papel de los virus tipo C en la etiopatogenia del Lupus humano, este es aun materia de controversia (20-21). Los datos que lo apoyan son la deteccion de antigenos virales P-30 en los depositos inmunes fijados en el glomerulo, y la elucion de inmunoglobulinas con actividad antiviral antiP-30 tambien del glomerulo.

El papel de agentes infecciosos tambien se apoya en que en un estudio de mas de 20 pacientes con Lupus (22) todos tuvieron titulos elevados ($>1:20$) de anticuerpos contra *Rickettsia haemobartonella* y *R. anaplasmatocae*, estos mismos anticuerpos solo fueron detectados en 13 de 102 controles. Aun mas, uno de los pacientes quien tenia nefritis lupica se le demostro en los glomerulos el antigeno de la *R. haemobartonella*.

Hasta el momento se desconoce la especificidad y la naturaleza primaria de todos estos hallazgos.

Curso de la enfermedad y sobrevida

Los estudios en 1955 reportaban sobrevida a 4 años en el 51% de los pacientes, pero datos en 1974 y recientemente en 1982 reportan sobrevida de 10 años en 70 a 90% de los pacientes(23).

Las causas de esta gran diferencia son múltiples y complejas pero son una fuente muy interesante de análisis .

Independientemente de lo anterior, el pronóstico es mejor mientras la edad de inicio es mayor, y cuando no existe dano renal o participación del sistema nervioso central y desde luego infección agregada.

Cuando existe dano renal, la mortalidad se incrementa en dos etapas, una inicial donde el riesgo de muerte se debe a lupus activo y a sepsis y otra tardía donde el riesgo se debe a alteraciones vasculares avanzadas y a insuficiencia renal terminal.

No están reportadas diferencias en el pronóstico con respecto a la raza.

ASPECTOS GENETICOS

El LEG es una enfermedad multifactorial y parte de ello lo constituyen los factores geneticos, los cuales participan fuertemente en la susceptibilidad y pueden determinar tanto las características clinicas como tambien las alteraciones de laboratorio(24).

La comprension de la fisiopatologia del Lupus humano se apoya en los varios modelos murinos de enfermedades autoinmunes.

A pesar de que se conocen muchos aspectos fisiopatogenicos en estos modelos experimentales ,hasta la fecha es muy dificil identificar genes especificos y mas dificil aun es desentranar los mecanismos por los cuales estos genes ejercen este efecto .

Para entender este factor genetico ha sido muy util el estudio de los genes del MHC (25) asi como tambien la relacion que tienen estos con otros genes como los que codifican para el receptor de antigeno situado en las celulasT, y tambien con los genes de las inmunoglobulinas.

Es de particular importancia la contribucion de los genes que codifican las proteinas del complemento C2, Factor B y C4 ya que estos genes son muy polimorficos (tienen muchos alelos) y estan situados en la region Ia en el brazo corto del cromosoma 6 humano que se conoce contiene a los genes de respuesta inmune.

Tambien son relevantes los genes que codifican para los receptores de los productos de particion de algunas proteinas del complemento (C3b, C4a y C5a) (26).

Los estudios en las familias de los pacientes y los estudios en gemelos mono y dicigotos (27) permiten concluir que la enfermedad en efecto se hereda, sin embargo queda aun por precisar la forma de herencia.

Algunos autores piensan que en la susceptibilidad participan no menos de 2 genes situados en 2 cromosomas diferentes y que no se requieren mas de 3 genes para determinar el fenotipo de susceptibilidad en cualquier individuo. En esta tercia participarian una gran variedad de genes lo que daria lugar a los diferentes subgrupos clinicos de LEG (19).

Otra forma de pensamiento sugiere que en la autoinmunidad participa solo un gen el cual se hereda en forma dominante y no esta situado en el MHC (28).

El calculo de la penetrancia, obtenida por estudios en gemelos monocigotos concordantes para lupus es de por lo menos 35% y hasta 65%, lo cual es mas alto que para cualquiera de las otras enfermedades autoinmunes ,estos datos sugieren que es probable que la penetrancia sea muy alta en los familiares consanguineos de los individuos afectados (7).

Tambien existen datos indirectos que apoyan la participacion genetica, como por ejemplo el hecho de que 12% de los pacientes tienen otro familiar en primer o segundo grado afectado de LEG (7).

Existen un gran numero de reportes de familias donde mas de una persona esta afectada , estas familias se conocen como "familias multiples" y en ellas persiste la nocion de que las mujeres se afectan mas que los hombres, por lo tanto es mas frecuente observar combinaciones de madre e hija o de dos o mas hermanas (29).

No existen diferencias ni clinicas ni serologicas al comparar los casos que ocurren en las familias multiples con los casos que ocurren aisladamente .

Por otro lado, existen familias donde los hermanos del caso índice de lupus presentan otras enfermedades autoinmunes y no necesariamente LEG (18).

En estas familias de autoinmunidad también es factible encontrar como ya se menciona para el LEG alteraciones serológicas en los individuos sanos (30).

Las formas clínicas de las combinaciones entre padres e hijos son muy parecidas entre sí, también lo son las de los gemelos, pero sin embargo existen diferencias de la forma clínica entre los hermanos de una misma familia nuclear .

La participación de factores ambientales se apoya en la alta frecuencia de anticuerpos antinucleares y antilinfocitos en los familiares NO consanguíneos que habitan la misma casa del enfermo y también por que el intervalo de edad de inicio de la enfermedad es más corto en los hijos que lo que lo fue en los padres (31).

En conclusión, existen factores ambientales que desencadenan la enfermedad en individuos genéticamente susceptibles.

Esta susceptibilidad se ha estudiado en numerosos trabajos utilizando diversos marcadores genéticos; la gran mayoría de ellos trata de la participación de los genes del sistema principal de Histocompatibilidad MHC, por lo que enseguida se describe brevemente la organización que tienen estos genes localizados en el brazo corto del cromosoma 6 humano.

El sistema principal de Histocompatibilidad está constituido por tres tipos de genes (32): los genes clase I codifican las proteínas del sistema HLA-A, HLA-B y HLA-C; los genes clase II codifican las proteínas del sistema HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ; los genes clase III codifican las proteínas del sistema del complemento Factor B, C2 y dos genes para el cuarto componente del complemento llamados C4A y C4B. Los genes clase III ocupan una porción de 120 kilobases de DNA entre la región del HLA-B y HLA-DR, los estudios de familia no han detectado recombinantes entre los genes del complemento, por lo que se heredan en forma de haplotipo, característica que les ha valido el nombre de haplotipos del complemento o COMPLETOS .

Interpuestos entre los dos genes de C4 están los dos genes que codifican para la enzima que hidroxila el Carbono 21 en la biosíntesis del cortisol (21-OH-A y 21-OH-B) .

Desde la region de los genes clase II en direccion al centromero y a cinco unidades geneticas (centimorgans cM) esta localizado el gen estructural de la enzima Glioxalasa I (GLO).

Todos estos genes se ilustran en la figura 1 .

La característica fundamental de los genes del MHC es su alto grado de polimorfismo, la que es muy util para distinguir individuos tan cercanos uno del otro como lo son los hermanos.

Una de las funciones biologicas importantes del MHC es su participacion en la regulacion de la respuesta inmune (33).

Por todo lo anterior estos genes han sido muy utiles tanto en el estudio de las poblaciones normales como tambien en el estudio de la enfermedades.

Desde que en 1967 (34) se reporto la asociacion del linfoma de Hodgkin con un alelo de los genes del sistema HLA, una gran cantidad de enfermedades tambien se han reportado asociadas a alelos de estos genes (35).

Se piensa que los mecanismos por los cuales estos genes ejercen su efecto son muy variados, por lo tanto tambien son multiples las causas para explicar la asociacion .

Se conoce muy poco de los mecanismos moleculares que regulan estos genes en el estado normal y por lo tanto tambien es muy dificil precisar cual es su participacion en la fisiopatogenia de las enfermedades .

En el caso del lupus eritematoso generalizado se han reportado asociaciones tanto con genes clase I como con genes clase II y con clase III (35).

Los reportes de asociacion se refieren tanto a estudios de poblacion abierta (individuos aislados) como en estudios de familias.

Las asociaciones se han descrito tanto con alelos individuales como con haplotipos que incluyen combinaciones especificas de los genes clase I, clase II y clase III (combinaciones en desequilibrio genetico).

En 1983 aparecio un estudio (36) con pacientes de origen caucasico efectuado en Inglaterra, el cual resalto la asociacion de LEG con alelos nulos de los dos loci de C4 (C4A*Q0 y C4B*Q0) estos datos fueron confirmados por otros autores quienes estudiaron ademas de caucasicos, individuos de raza negra (37).

En 1986 utilizando los datos del reporte ingles y empleando una formula estadistica que pondera la relevancia de dos genes cuando ambos estan asociados con la misma enfermedad se demostro que la asociacion es primaria con los alelos nulos de C4 y secundaria con los loci del sistema HLA (38).

Este trabajo trata del estudio de los genes del MHC en pacientes mexicanos con Lupus y hace enfasis en el estudio de los genes de los complotipos.

II. MATERIAL Y METODOS

A. PACIENTES Y FAMILIARES SANOS

Se estudiaron 74 familias que comprenden 89 pacientes y 380 familiares sanos, 8 de estas familias son de casos multiples; con respecto al sexo solo 3 de los pacientes fueron hombres.

Todos los pacientes acuden a la consulta externa del Instituto Nacional de la Nutricion "Salvador Zubiran".

Los pacientes fueron captados en forma consecutiva y en funcion de que sus familias estuviesen de acuerdo en participar en el estudio.

Las familias estuvieron constituidas por el caso indice y su familia nuclear (padre, madre y hermanos). En algunos casos tambien se incluyeron a los hijos.

Se hizo enfasis en conseguir a todos los integrantes de la familia nuclear con el objeto de estudiar la segregacion de los haplotipos del MHC, lo que es particularmente importante en las familias con mas de un enfermo.

B. DETERMINACION DE LOS ANTIGENOS DEL SISTEMA HLA

Se obtendran 50 ml de sangre periferica de cada individuo; 40 de los cuales seran anticoagulados con heparina y las celulas mononucleares se obtendran mediante gradientes de Ficoll-hypaque; las poblaciones de linfocitos T y B se separaran mediante rosetas con globulos rojos de carnero y con la tecnica de nylon-lana.

La asignacion de las especificidades antigenicas se realizara utilizando mas de 140 antisueros para los loci del HLA-A, HLA-B y HLA-C y 50 antisueros para el HLA-DR (Pell-Freeze).

La tecnica usada sera la de microlinfocitotoxicidad, utilizando como colorante vital Eosina (14).

Para la determinacion de los antigenos del locus DR, se utilizara la tecnica sugerida en el 8o. taller Internacional de Histocompatibilidad efectuado en Oxford, Inglaterra, 1978 (15).

C. DETERMINACION DE LOS HAPLOTIPOS DEL COMPLEMENTO. (COMPLOTIPOS).

Los 10 ml restantes de sangre periferica seran depositados en un tubo vacutainer con EDTA como anticoagulante; el plasma se separara mediante centrifugacion y el paquete de globulos rojos se lisara con agua destilada; tanto el plasma como el lisado, se conservaran a -70 C hasta su analisis.

Tipificación del factor B

Una alícuota del plasma EDTA será analizada en un sistema de electroforesis en gel de agarosa que utiliza como amortiguador barbitalal 0.05M y lactato de calcio al 0.01 mM.

Las variantes electroforéticas serán reveladas mediante inmunofijación con antifactor B humano (Atlantic-Antibodies, Scarborough, Maine) (16).

Tipificación del segundo componente del complemento (C2)

Se analizarán 20 microlitros del plasma EDTA en un sistema de electroenfoque en placa delgada de gel de poliacrilamida que contiene 2% de anfolinas (LKB) en un rango de pH de 5.0-8.0.

Las variantes estructurales de C2 serán reveladas mediante un ensayo hemolítico con glóbulos rojos de carnero sensibilizados con IgG y añadiendo como fuente de complemento suero humano deficiente en C2 (17).

Tipificación de los genes del cuarto componente del complemento (C4)

Otra alícuota del plasma EDTA será sometida a un proceso de eliminación del ácido siálico utilizando Neuraminidasa tipo VI (Sigma) obtenida de *Clostridium perfringens*, el proceso se efectúa utilizando un sistema de microdialisis con un amortiguador de fosfatos pH 6.9, durante 18 horas a 4 C .

Las muestras ya sin ácido sialico se analizarán en un sistema de electroforesis en gel de agarosa con un amortiguador discontinuo de tris-glicina-barbital pH 8.9.

Las variantes electroforéticas de C4A y C4B se revelan mediante inmunofijación con anti-C4 humano (Atlantic-Antibodies) (18).

Las muestras en las que el análisis inmunoquímico de las variantes estructurales revele alelos nulos del locus A o del locus B en el estado heterocigoto serán posteriormente analizadas en un sistema de electroforesis en doble dimensión con el propósito de confirmar los alelos nulos (C4*Q0) (19).

Nomenclatura de los genes del complemento.

La nomenclatura sigue las normas sugeridas por el Comité Internacional para genes humanos (20).

La asignación de los alelos de C4 sigue las normas acordadas en el cuarto taller internacional para la genética del complemento efectuado en la ciudad de Boston, Massachusetts, 1982. El informe de los acuerdos ya fue publicado (21).

Existen en el locus de C4A seis variantes estructurales comunes designadas como C4A*1 hasta C4A*6 y una variante nula designada a su vez como C4A*Q0.

En el locus de C4B existen cinco variantes estructurales comunes designadas como C4B*1 hasta C4B*5, además existe también una variante nula designada como C4B*Q0.

Puesto que los alelos de estos genes son heredados en bloque se les conoce como haplotipos del complemento o COMPLEOTIPOS. De esta manera, por ejemplo el complotipo SC31 contiene los alelos FB*S,C2*C,C4A*3 y C4B*1

D. TIPIFICACION DEL GEN ESTRUCTURAL DE GLIOXALASA (GLO).

El gen de la glioxalasa tiene dos alelos (GLO*1 y GLO*2) que son expresados en forma codominante; estos se estudiarán en un sistema de electroforesis en acetato de celulosa utilizando como muestra los lisados de glóbulos rojos de cada uno de los individuos y un amortiguador de tris-barbital. Las variantes serán reveladas con Metil-glioxal (Sigma), glutation (Calbiochem), metiltetrazolio y dinitrocloroindofenol (Sigma) (22).

E. ANALISIS ESTADISTICO

Cada familia aporta cuatro haplotipos, dos de ellos provienen del padre (designados por las letras A y B) y dos que provienen de la madre (designados por las letras C y D); de tal forma que en los hijos existen cuatro posibles combinaciones de haplotipos: AC, AD, BC y BD.

Aquellos dos haplotipos heredados por el caso indice seran designados como "haplotipos enfermos" y a los dos haplotipos NO heredados por el enfermo se les designara como "haplotipos normales"; el tercer grupo de haplotipos incluidos en este trabajo estara formado por haplotipos obtenidos de individuos pertenecientes a familias normales mexicanas y que en nuestro departamento constan ya de 350; estos han sido designados como "haplotipos control".

De esta manera el analisis de la informacion incluira las frecuencias genicas de los alelos del MHC en los tres grupos de individuos (LEG, Normales LEG y controles).

Cualquier diferencia observada al comparar las frecuencias entre cada uno de los grupos se analizara mediante tablas de contingencia de 2x2 y las pruebas de chi cuadrada y exacta de Fischer; corrigiendo el "valor de p" por el numero de comparaciones realizadas

III. RESULTADOS

- A. La tabla 2 muestra la frecuencia genica de los alelos del sistema HLA-A, HLA-B, HLA-C y HLA-DR en cada uno de los tres grupos.
- B. La tabla 3 muestra la frecuencia genica de los alelos del sistema del complemento en cada uno de los tres grupos.
- C. La tabla 4 muestra la frecuencia genica de los alelos de la Glioxalasa en cada uno de los tres grupos.
- D. La tabla 5 muestra la frecuencia genica de los complotipos en cada uno de los tres grupos.
- E. La figura 2 muestra la asociacion de pares de haplotipos en todos los individuos (sanos y enfermos) de las familias de lupus eritematoso generalizado. la grafica muestra a los individuos caso indice señalados por el simbolo (•), los familiares sanos que comparten dos haplotipos con el enfermo y son del sexo masculino estan señalados por el simbolo (Δ), los familiares sanos que

comparten dos haplotipos con el enfermo pero son del sexo femenino estan señalados con el simbolo (\emptyset) ; a los familiares enfermos que comparten los dos haplotipos con el caso indice estan señalados con el simbolo (\emptyset) y

finalmente a los familiares enfermos que comparten solo un haplotipo con el caso indice estan señalados con el simbolo (*).

F. La figura ³/₄ muestra a las combinaciones de haplotipos HLA y complotipos mas frecuentes en la poblacion de lupus; estan representados segun el antígeno del locus HLA-B. Se incluyen para comparacion familiares y controles.

Puede notarse la diferencia en el complotipo que acompaña a cada uno de los antígenos del HLA-B en los tres grupos de estudio. Es de particular importancia el haplotipo HLA-B14,DR1 por dos motivos: en primer lugar su frecuencia en comunidades indígenas mexicanas es relativamente alta (cerca al 10%) y en segundo lugar por que este haplotipo posee una triplicacion de los genes de C4 cuando se acompaña del complotipo SC21 (convirtiendose en SC22,1 o SC2,11) . Esta situacion ha sido demostrada por estudios de familia y por estudios moleculares usando el cDNA de C4. Es interesante que estos haplotipos triplicados se observaron en algunos haplotipos de pacientes con lupus.

6
G. La tabla 7 muestra los haplotipos mas frecuentes en el grupo de pacientes con Lupus y su comparacion con haplotipos de indigenas mexicanos, asi como tambien con haplotipos extendidos provenientes de las poblaciones caucasica y japonesa. Los haplotipos causicos se incluyen por que aparecieron en algunos pacientes mexicanos con lupus y los japoneses solo con propositos de comparacion.

H. La figura 4 muestra la frecuencia de alelos nulos en la poblacion normal mexicana, en los familiares de Lupus y en los pacientes con Lupus; en el extremo derecho de la figura se muestra el tipo de complotipo portador del alelo nulo, puede notarse que los pacientes con lupus lo tienen preferentemente en los complotipos SC01 y SC30, mientras que los familiares tienen varios complotipos portadores de dicho alelo nulo.

IV. DISCUSION

El estudio del factor genetico de susceptibilidad a enfermedad se apoya en la correcta seleccion de pacientes y controles. En el caso de lupus esto es particularmente critico ya que la enfermedad es muy heterogenea desde el punto de vista clinico y probablemente tambien lo sea desde el punto de vista genetico; aun mas, la enfermedad tambien tiene diferentes mecanismos fisiopatologicos; baste recordar la gran diferencia que en este sentido existe entre el lupus espontaneo y el lupus inducido por drogas.

Tambien es muy importante contar con la correcta captacion de los pacientes ya que no es igual hacerlo atravez de la consulta externa que a travez de pacientes de hospitalizacion, estos ultimos desde luego seleccionarian formas de la enfermedad mas severas.

Por otro lado, el problema de la caracterización de la susceptibilidad genética no solo requiere del adecuado manejo estadístico de los datos sino también de conocer las diferentes formas de estratificación de la población (socioeconómica y étnica) con el propósito de poderlas manejar adecuadamente .

En este estudio los controles también fueron captados de la misma fuente que la familia de los pacientes con lupus lo que evita en parte este problema de la estratificación.

Se incluyeron solo casos de pacientes que acuden a nuestro hospital con el propósito de mantener homogénea tanto a la población de pacientes como a la de normales, y de esta manera mantener en equilibrio el problema de la estratificación.

Puesto que la mayoría de los pacientes provenían de la ciudad de México nos interesó conocer la distribución de los genes del MHC (en especial de los genes del complemento) en la población normal mexicana independientemente de nuestra muestra de normales, por lo que participamos en un estudio en colaboración con los departamentos de genética del INNSZ y del instituto de investigaciones antropológicas de la UNAM, el estudio fue diseñado específicamente para conocer el grado de mezcla étnica de las principales ciudades del país según un modelo étnico trihíbrido (Caucásico, indígena y negro); Este estudio incluyó además de los genes de los haplotipos a los de marcadores

geneticos situados en otros cromosomas. Los datos fueron analizados finalmente en un programa especial de computacion.

El resultado de este estudio (52) fue que la poblacion de la ciudad de Mexico tienen 56% de genes indigenas, 40% de genes caucasicos y 3% de genes negros.

El dato relevante es la proporcion elevada de genes indigenas, la cual fue subestimada en estudios previos.

Esto sugiere que es muy importante el conocimiento de genes indigenas para conocer con precision la estructura genetica normal del mestizo Mexicano, con el proposito de entender lo que ocurre en el enfermo.

Los indigenas en Mexico, segun datos del censo de 1980 constituyen 5 millones de individuos (7% de la poblacion total) comprendidos en 52 grupos que a su vez pertenecen a cinco troncos bien caracterizados desde el punto de vista linguistico y de otros caracteres antropologicos.

Existen datos de las frecuencias del sistema HLA de uno de esos grupos (Nahuas)(53) y nosotros hemos estudiado con el HLA, los Complotipos y la GLO a otros dos grupos diferentes (Tzotziles y Tarascos).

Los datos relevantes de nuestros estudios en indigenas (54)

son que existe un haplotipo comun a los Tzotzil y Tarascos y dos grupos y dos haplotipos que los diferencian, uno de los haplotipos como ya se menciono es relativamente frecuente en la poblacion de Lupus. Con los datos actuales es muy dificil precisar si es el mismo haplotipo o es diferente; tampoco se tienen datos de la incidencia de lupus en estas dos comunidades.

Los estudios moleculares en individuos tanto indigenas como mestizos y pacientes con lupus ayudaran a definir estos puntos.

Particularmente pensamos que son haplotipos extendidos equivalentes al haplotipo HLA-A1,B8,DR3,SC01 de la poblacion caucasica (55).

La oportunidad de estudiar los origenes de nuestra poblacion mestiza es unica en el caso de los Mexicanos ya que nuestra region fue asiento de un gran numero de etnias y culturas bien desarrolladas en epocas relativamente recientes (menos de cuatro siglos) (56), y por lo tanto el mestizaje con individuos de raza blanca y negra es tambien relativamente joven; creemos que esta situacion da un matiz muy peculiar a la susceptibilidad genetica a las enfermedades en el individuo mexicano.

En cuanto a los datos de los genes del MHC en lupus publicados en otras poblaciones (Caucasicos, japones y negros) .

En los caucasicos existen dos haplotipos uno marcado por el HLA-DR2 y otro por el HLA-D3; este ultimo se acompaña del

complotipo SC01 el cual parece primariamente involucrado; en el caso del HLA-DR2 este parece actuar independientemente; el riesgo relativo para DR y complotipos apoyan estas consideraciones.

Otro factor que parece participar en la poblacion caucasica en la susceptibilidad genetica al lupus son los haplotipos que contienen deficiencias de los componentes del complemento; en un estudio frances (57) existe un gran numero de estos haplotipos y en este sentido, cabe senalar que puesto que la deficiencia de C2 solo se ha descrito en individuos de origen caucasico y existe solo en un haplotipo tambien de origen caucasico(HLA-A25, B18,DR2,Dw2,FB*S,C2*Q0,C4A*4,C4B*2),esto sugiere que la mutacion que dio lugar a la deficiencia de C2 es reciente y ocurrio en un individuo de origen caucasico; cuando el lupus se asocia a este haplotipo tiene una forma clinica conocida como lupus cutaneo subagudo; esto explica por que tanto la deficiencia de C2 como la forma clinica que se asocia a ella son extraordinariamente raras en mexicanos.

En los negros solo la deficiencia parcial de C4 se ha demostrado que participa en la susceptibilidad a Lupus C4A*Q0 ; esto no quiere decir que no halla haplotipos del MHC en este grupo etnico, ya que la enfermedad es muy frecuente en ciertos grupos de raza negra (negros jamaquinos) ; la explicacion de no

haber encontrado asociación con otros alelos del MHC puede ser por que los individuos de raza negra son muy heterogeneos y se requiere tanto mas pacientes como mas controles y ambos homogeneamente seleccionados.

En nuestros datos nos parece que resaltan varias cosas por un lado la ausencia ya senalada del haplotipo de la deficiencia de C2 y por otro lado la participacion de los alelos nulos de C4 (deficiencias parciales), sobre todo en los complotipos SC01 y SC30 ya sea independientemente o en asociacion con los antigenos clase I : HLA-B5, B35 Y B7 , sugiriendo interaccion genica entre moleculas clase I y clase III dentro del mismo cromosoma.

Merece especial atencion el haplotipo HLA-B14,DR1,SC21 pues parece ser un haplotipo extendido de origen autoctono(debido a su presencia relativamente frecuente en las comunidades indigenas mexicanas).

Es muy importante precisar este punto mediante estudios biologicos especificos en individuos portadores de este haplotipo ya que podrian participar en otras enfermedades autoinmunes de los mexicanos.

Es muy posible que existan haplotipos extendidos mexicanos que participen en la susceptibilidad genetica de lupus marcados por el HLA-B35y B5 pero para precisar este dato se requieren mas

casos de familias con lupus que tengan estos antígenos ya que la frecuencia de ellos en la población normal mexicana es muy alta; es muy interesante el hecho de que estos dos antígenos los tienen prácticamente todas las comunidades indígenas del continente americano estudiadas hasta la fecha(58).

los haplotipos caucásicos encontrados en nuestros pacientes reflejan el mestizaje de la población mexicana; es muy interesante el hecho de que los haplotipos de los más frecuentes en la población de lupus son extraordinariamente raros en poblaciones caucásicas, apoyando nuevamente su origen mexicano.

cccc

También es muy interesante que los haplotipos extendidos de los japoneses prácticamente no existen ni en mexicanos ni en caucásicos, apoyando la noción de su origen japonés.

Con respecto a la frecuencia por alelos de cada uno de los genes de el MHC resalta la encontrada para los alelos nulos de C4 y de DR2 en forma exclusiva; esto, más los datos expresados en la gráfica de la figura 5 donde se muestra además la participación de los alelos de GLO sugiere que existe interacción entre cada uno de los genes del MHC en ciertas familias; lo que se hace más ostensible en aquellas con más de un enfermo donde encontramos que cuando una mujer compartía los dos haplotipos con el caso

índice y estos eran marcados por el complotipo SC01 y SC30 con el alelo 2 de la Glioxalasa la probabilidad de adquirir la enfermedad resulto ser muy alta .

En conclusion pensamos que existen tres tipos de interaccion de genes del MHC que participan en el desarrollo del LEG :

1. Haplotipos portadores de alelos nulos de C4 (SC01 y SC30)
2. Haplotipos con antígenos del HLA y con complotipos raros (HLA-B14, DR1, SC21, Y haplotipos extendidos marados por HLA-B35 y HLA-B5 con HLA-DR2.
3. Haplotipos con HLA y complotipos normales donde otros genes son los primariamente involucrados.

Consideramos que los estudios funcionales de inmunología celular de biología molecular y de otros marcadores genéticos se verán complementados muy bien al clasificar a los pacientes mediante estos tres grupos genéticos que proponemos en este trabajo.

Finalmente, creemos que el estudio de Lupus Eritematoso Generalizado en los pacientes mexicanos ofrece una gran riqueza de información debido a la extraordinaria heterogeneidad genética de nuestra población.

BIBLIOGRAFIA

1. Dubois E L : The clinical picture of systemic lupus erythematosus (chap 7, and chap 9, suppol, ed by E I. Dubois, university of southern California Press, Los angeles, 1974, P 232.
2. Winchester R J, Nunez Roldan A : Some genetic aspects of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 25 :833-837, 1982.
3. De horatius R J, Pillarisetty R, Messner R P, et al: Antinucleic acid antibodies in systemic lupus erythematosus patients and their families. Incidence and correlations with lymphocytotoxic antibodies. L Clin Invest 56:1149-1154, 1975.
4. Aguado M T, Perrin L H, Miescher P A, Lambert P H. Decreased capacity to solubilize immune complexes in sera from patients with systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum,. 1981: 24: 1225-1229.
5. Emlen W, Mannik M. Clearance of circulating DNA-antiDNA immune complexes in mice. J Exp Med. 1982; 155:1210-5

6. Alcocer Varela J, Alarcon Segovia D. Decreased production of and response to interleukin-2 by cultured lymphocytes from patients with systemic Lupus erythematosus. J Clin Invest 1982;69:1388-92
7. Arnett F C Reveille J D, Wilson R W. et al: Systemic lupus erythematosus: current state of the genetic hypothesis. Semin Arthritis Rheum 1984; 14-24-35
8. Zweiman B et al : The prognosis of lupus nephritis. Role of clinical pathologic correlations. Ann Intern Med 69:441-462, 1968
9. Mandel M J et al: anti-native DNA antibodies in discoid lupus erythematosus. Arch Dermatol 106:668-670, 1972
10. Atkins C J, Kondan J J, Quismario F D, et al: Ann Intern Med. 76:65,1972
11. Tan E M, et al: The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erithematosus Arthritis Rheum , 25:1271, 1981
12. Segeol M , et al: Epidemiologic studies on systemic lupus erythematosus comparative data for Nex York city and Jeffeesson contry, Arthritis Rheum 13:1956-1965 , 1970
13. Fessel J W : systemic lupus erythematosus in the comunity. Arch Intern Med 134: 1027-1035. 1974

14. Serdula M K, Rohads G G : Frequency of systemic lupus erythematosus in different ethnic groups in Hawaii. *Arthritis Rheum*, 2:328-333,1979
15. Morton R O , Et al: The incidence of systemic lupus erythematosus in North American Indians. *J Rheumatol*, 3:186-190, 1976
16. Frajman M , et al: Effect of pregnancy on functions of circulating T cells from patients with systemic lupus erythematosus, *Clin Immunol Immunopathol*. 29 :44,1983
17. Lahita R G, Bradlow H L, Kunkel H G and Fishman J: Alterations of estrogen metabolism in systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum*;22:1195,1979
18. Reveille J D, et al: Null alleles oof the fourth component and HLA haplotypes in familial systemic lupus erythematosus. *Immunogenetics* 1985,21:299-311
19. Shen H H, Winchester R : Susceptibility genetic of systemic lupus erythematosus. *Springer Semin Immunopatholo* 9:143-159,1986
20. Goodman J R et al: Virus like structures in limphocytes of patients with systemic and discoid lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 79:396-402,1973
21. Kimura M , Andon T amd Kai K : Failure to detect type C virus p30-related antigen in systemic lupus erythematosus: false -positive reaction due to protease activity. *Arthritis Rheum*. 23:111-113, 1980

22. Kallick C A, Thadhanl K C, and Rice T: Identification of anaplasmatocae (Haemobartonella) antigen and antibodies systemic lupus erythematosus, Arthritis Rheum, 23:1241-1245, 1980
23. Ginzer E M , et al: A multicenter study of outcome in systemic lupus erythematosus. I Entry variables as predictors of prognosis. Arthritis Rheum, 25:601-611, 1982
24. De Horatius R J, Pillarisety R, Messner R P, et al: Antinucleic acid antibodies in systemic lupus erythematosus patients and their families. Incidence and correlations with lymphocytotoxic antibodies. J Clin Invest 56: 1149-1154. 1975
25. Walters H, Konrad P, Walford R L : The distribution of HL-A histocompatibility factors and genes in patients with systemic lupus erythematosus. Tissue Antigens : 68-73 , 1965
26. Wilson J G, Wong W W, Schur P H, Fearon D T, Mode of inheritance of decreased C3b receptors on erythrocytes of patients with systemic lupus erythematosus. N Engl J Med 1982; 307:981-6
27. Block S R et al: Studies of twins with systemic lupus erythematosus : A reveiw of the literature and presentation of 12 additional sets. Am J med 59:533-552, 1975

28. Blas W, Meyers D A, Conley C L et al: Evidence that autoimmunity is a Mendelian dominant trait. Am J Hum Genet. 35:77a,1983 (abstr)
29. Buckman K J , Moore S K, Ebin A, Cox M B, Dubois E L : Familial systemic lupus erythematosus. Arch Intern Med, 138:1674, 1978
30. Lippman S, Arnett F C, et al: Genetic factors predisposing to autoimmune diseases: Autoimmune hemolytic anemia, Chronic thrombocytopenic purpura and systemic lupus erythematosus. AM J Med 73: 827-840, 1982
31. Cleland L G, Bell D A, Williams M et al: Familial Lupus. Family studies of HLA and serologic findings. Arthritis Rheum 21: 183-191. 1978
32. Klein J. The major histocompatibility complex. In: Immunology, the science of self and nonself discrimination. a Willey inter-science Publ, John Willey and sons. 1982.
33. Zinkernagel R M, and Doherty P C. MHC-restricted cytotoxic T cells; studies on the biological role of the polymorphic major transplantation antigens determining T cell restriction-specificity , function and responsiveness. Adv. Immunol 27: 51,1979

34. Tiwari J L, Terasaki P I: HLA and disease Associations , Springer-Verlag, New York, 1985
35. Mathews J D. Genetic Markers in SLE Overview-possible V gene interactions. In: Daxkins R L et al: (Excerpta ICS 602) 239-241,1982
36. Fielder A H , et al: Family study of the major histocompatibility complex in patients with systemic lupus erythematosus: importance of null alleles of C4A and C4B in determing disease susceptibility. Br Med J : 286:425-428, 1983
37. Howard P F, Hochberg M, Bias W B, et al: Relationship between C 4 null genes, HLA-D region antigens, erythematosus in caucasian and black americans, Am J Med; 81:187-192,1986
38. Green J, Montasser M, Woodrow J C: The association of HLA-linked genes with systemic lupus erythematosus: Ann Human Genet, 50:93-96 .1986
39. Lowry R, et al: Improved B cell typing for HLA-DR using nylon wool column enriched B lymphocyte preparation. Tissue Antigens 14:325-330,1979
40. Terasaki P I, Et al: Microdotlet assay of human serum cytotoxins. Nature, 1964,204:998-1000
41. Van Rood JJ, Van Leeuwen A, Keuming JJ, Blusse Van Oud J Albas J. The serological recognition of the human MLC determinants using a modified cytotoxicity Technique. Tissue Antigens, 5;75-79,1975

42. Alper C A, Boenisch T, Watson L : Genetic polymorphism in human glycin-rich beta-glycoprotein. J Exp Med 135:68,1972
43. Alper C A: Inherited structural polymorphism in human C2: Evidence for genetic linkage between C2 and BF. J Exp Med, 1976;144:1111-1115
44. Awdeh Z L, Alper C A: Inherited structural polymorphism of the fourth component of complement (C4) . Proceedings of the National Academy of Sciences , USA, 1980;77:3576-3580
45. Awdeh Z L, Raum D, Alper C A: Genetic polymorphism of the fourth component of human complement : detection of heterozygotes. Nature, 1979; 282:205-207
46. Shows T B, Alper C A, et al: International system for human genetic nomenclature (1979) ISGN (1979) Cytogenet Cell Genet 1979; 25:96-116
47. Mauff G, Alper C A, et al: Statemet on the nomenclature of human C4 allotypes. Immunobiology 164:184-191,1983
48. Alper C A, Raum D, Karp S, Awdeh ZL, and Yunis E J : Serum complement "Super-genes" of the major histocompatibility complex in man (complotypes) Vox Sanf, 1983; 45:62-67
49. Kompf J, et al: Polymorphism of red cell glyoxalase I (E.C.:44.1.5) A new genetic marker in man . Humangenetik, 1975; 27:141-143
50. Svejgard A., Jersild C, Nielsen L S, Bodmer W F, HL-A antigens and disease. statistical and genetical considerations. Tissue Antigens 4:95-105

51. Thomson G > A. A review of theoretical aspects of HLA and disease associations. Theoretical Population Biology 20:168-208.1981
52. Lisker R, Perez-Briceno R, Granados J, et al: Am. J Physical Anthropology 71: 203-207 1986
53. Gorodezky C, Najera R, Rangel B E, et al: Inmunogenetic profile of multiple sclerosis in Mexicans, Human Immunology 16:364-3744 (1986)
54. Loeza F, Olivares I, et al: Perfil inmunologico de una comunidad Tarasca , memorias XI congreso Nacional de Genetica Humana, Puebla, Mexico 1986
55. Awdeh Z L , et al: Extended HLA-complement allele haplotypes : Evidence for T/t like complex in man. Proc Natl Acad Sci, USA, 1983, 80:259
56. Sanchez- Albornoz N, La poblacion precolombina . In La poblacion de America Latina . Alianza Editorial , S A . , Madrid. pp43-57
57. Stoppa D, Gougerot A, et al: Etudes familiales du lupus erythemateux systemique marquers HLA et complotypes. Path Biol , 1986 , 34: 773-777
58. Rostyu D, Amos B, Mystenes of the Amerindians. Tissue Antigens 16: 111-123,1981

TABLA 1

<u>CIUDAD</u>	<u>GRUPO ETNICO</u>	<u>INCIDENCIA</u>	<u>PREVALENCIA</u>
NUEVA YORK	GENERAL	30 x MILLON	
SAN FRANCISCO	GENERAL	74 x MILLON	
	BLANCO		1 x 700 MUJERES ÷ 15-64 AÑOS DE EDAD
	NEGRO		1 x 245 MUJERES ÷ 15-64 AÑOS DE EDAD
	INDIOS NORTEAMERICA		
	GROW Y ARAPAHOE	100 x MILLON	
	SIoux	313 x MILLON	
ISLAS OAHU Y	CHINOS		TRES VECES MAYOR QUE
HAWAII	FILIPINOS Y JAPONESES		EN INDIVIDUOS DE RAZA BLANCA.

TABLA 2A

FRECUENCIAS GENICAS

HLA-A	ENFERMOS LEG N=177	PARIENTES LEG N=94	NORMALES N=754
A1	0.107	0.074	0.075
A2	0.344	0.404	0.265
A3	0.101	0.064	0.062
A9	0.158	0.191	0.159
A10	0.045	0.085	0.054
A11	0.056	0.031	0.047
A19	0.067	0.085	0.196
A28	0.084	0.064	0.130
AX	0.033		

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

TABLA 2B

FRECUENCIAS GENICAS

HLA-B	ENFERMOS LEG N=172	PARIENTES LEG N=100	NORMALES N=768
B5	0.180	0.160	0.093
B7	0.081	0.150	0.058
B8	0.063	0.030	0.029
B12	0.104	0.130	0.089
B13	0.023	0.040	0.016
B14	0.046	0.040	0.058
B15	0.052	0.030	0.069
B16	0.081	0.040	0.152
B17	0.029	0.050	0.023
B18	0.023	0.010	0.029
B21	0.029	0.010	0.048
B22	0.034	0.020	0.007
B35	0.133	0.190	0.138
B40	0.040	0.020	0.105
B41	0.011	0.010	0.0143
B70	—	—	0.006
B53	—	0.010	0.010
B48	0.005	—	—
B27	0.034	0.050	0.024
BX	0.023	—	—

TABLA 2c

FRECUENCIAS GENICAS

HLA-DR	ENFERMOS LEG N=172	PARIENTES LEG N=100	NORMALES N=768
DR1	0.081	0.165	0.104
DR2	0.146	0.189	0.114
DR3	0.192	0.101	0.123
DR4	0.198	0.215	0.304
DR5	0.052	0.076	0.085
DR6	0.058	0.038	0.066
DR7	0.192	0.203	0.076
DR8	0.035	0.013	0.085
DR10	0.005	—	—
DR11	—	0.013	—

TABLA 3A

FRECUENCIAS GENICAS

FACTOR B	ENFERMOS LEG N=174	PARIENTES LEG N=125	NORMALES N=87
S	0.833	0.808	0.816
F	0.132	0.152	0.172
S ₁	0.005	0.016	—
F ₁	0.028	0.024	0.011
C2	N=172	N=124	N=87
C	0.994	0.991	0.977
B	0.005	0.008	0.022
GLIOXALASA I	N=139	N=101	N=67
2	0.748	0.693	0.821
1	0.251	0.306	0.179

TABLA 3B

FRECUENCIAS GENICAS

C4 A	ENFERMOS LEG N=172	PARIENTES LEG N=135	NORMALES N=87
2	0.040	0.044	0.057
2, 2	—	0.007	—
3	0.697	0.622	0.609
4	0.058	0.103	0.149
1	—	0.007	0.022
5	0.005	—	—
6	0.005	0.007	—
3, 2	—	—	0.011
Q0	0.191	0.133	0.149
C4 B	N=172	N=101	N=87
1	0.761	0.688	0.666
2	0.069	0.144	0.206
3	0.023	0.024	—
4	0.005	0.024	0.011
Q0	0.139	0.120	0.114

TABLA 4

FRECUENCIAS GENICAS

GLIOXALASA I	ENFERMOS LEG N=174	PARIENTES LEG N=125	NORMALES N=87
2	0.748	0.693	0.821
1	0.251	0.306	0.179

TABLA 5

FRECUENCIAS DE COMLOTIPOS

COMLOTIPO	ENFERMOS LEG N=172	PARIENTES LEG N=114	NORMALES N=87
SC31	0.441	0.465	0.402
SC42	0.046	0.105	0.115
SC34	—	—	0.012
SC30	0.093	0.070	0.046
SC01	0.156	0.061	0.092
SC32	0.017	0.008	0.046
SC02	—	0.008	0.012
SB42	0.005	0.008	0.023
SC11	—	—	0.023
SC21	0.023	0.018	0.046
SC40	—	0.008	—
SC04	0.005	0.008	—
SC61	0.005	0.008	—
SC2, 21	—	0.008	—
SC33	0.017	—	—

TABLA 5 CONT.

FRECUENCIAS DE COMLOTIPOS

COMLOTIPO	ENFERMOS	PARIENTES	NORMALES
	LEG N=172	LEG N=114	N=87
SC20	0.011	—	—
SC51	0.005	—	—
S1C21	0.005	0.008	—
S1C11	—	0.008	—
FC01	0.023	0.053	0.046
FC31	0.093	0.070	0.046
FC30	0.017	0.026	0.046
FC33	—	0.018	—
F1C31	—	0.008	—
F1C30	0.0174	0.018	0.012
SC41	0.0058	—	—
SC03	0.0058	0.0087	—
FC3, 20	—	—	0.012
FC42	—	—	0.012
FC21	—	—	0.012

TABLA 6

FRECUENCIA DE HAPLOTIPOS EXTENDIDOS EN PACIENTES MEXICANOS CON LEG
 COMPARADO CON OTROS GRUPOS ETNICOS

HAPLOTIPOS	MEXICANOS %			CAUCASICOS	JAPONESES
	LEG MEZTIZOS	INDIOS			
-B35-DR4-SC31	23.1	15.2	35.4	<1	<1
-B7 -DR2-SC30	4.0	2.0	-	4.6	-
-B14-DR1-SC21	8.3	4.3	14.5	<1	-
-B8 -DR3-SC01	2.3	1.2	-	8.3	-
-B57-DR7-SC61	2.0	1	-	2.8	-
-B52-DR2-SC20	-	-	-	-	11.1

FIG. 1

GENES DEL MHC Cromosoma 6 Humano
brazo Corto

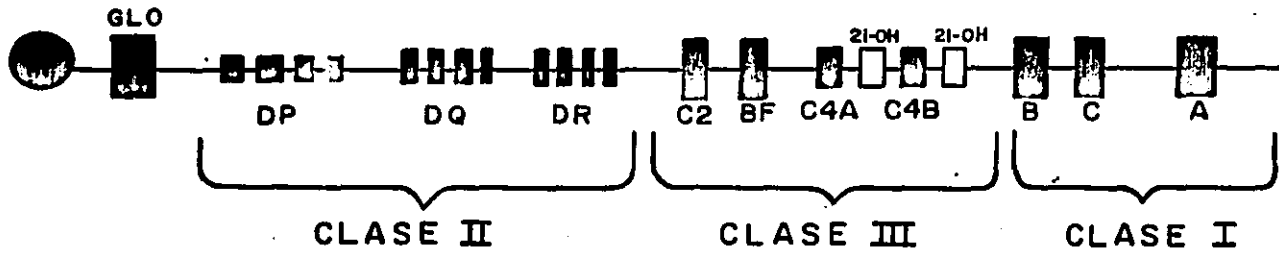


FIG. 3 FRECUENCIA DE COMPTIPOS EN PACIENTES MESTIZOS MEXICANOS CON L.E.G. ASOCIACIONES HLA-B-DR-COMPTIPO

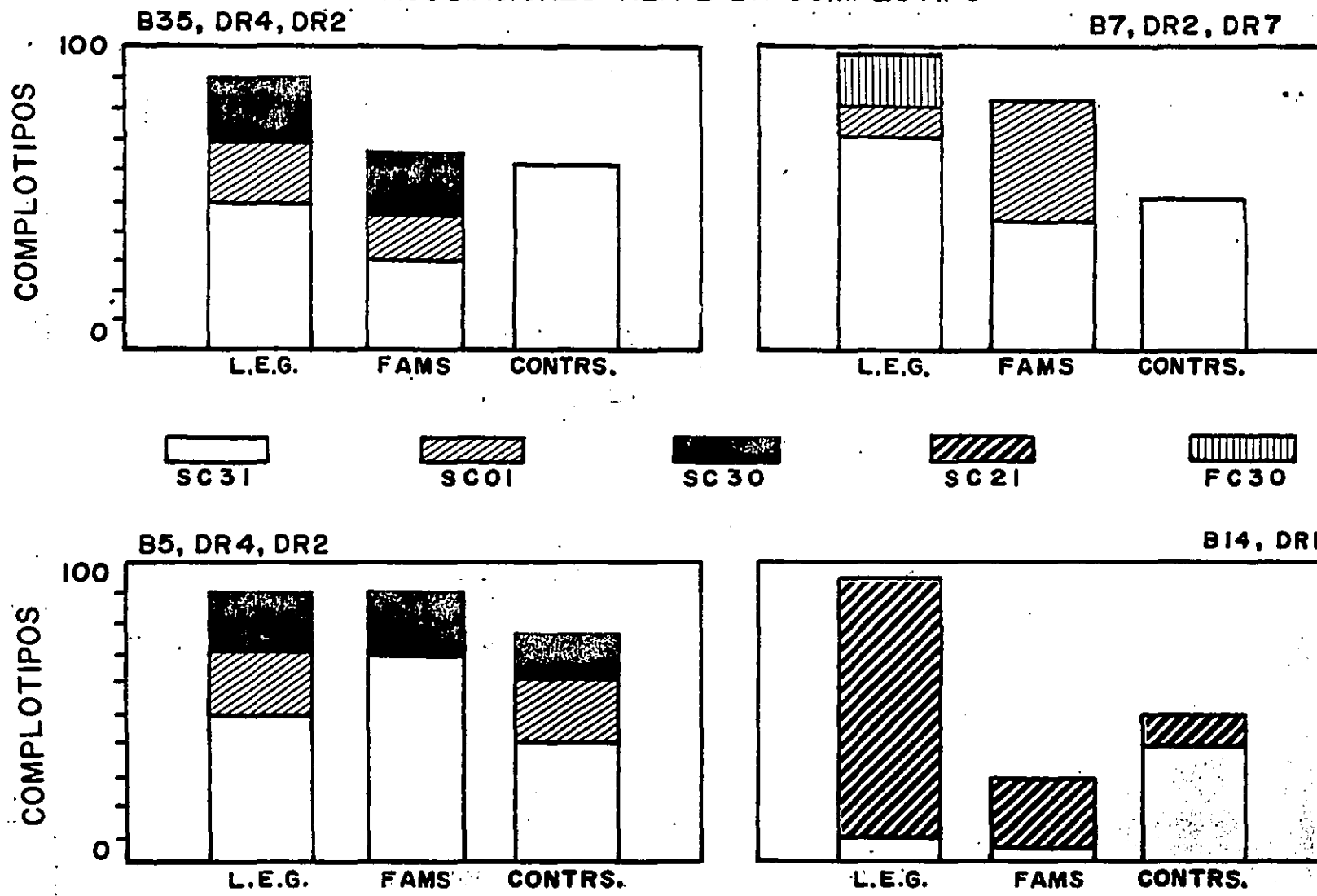


FIG. 4

