



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCOTORADO EN CIENCIAS MEDICAS  
ODONTOLOGICAS Y DE LA SALUD  
DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA  
EXPERIMENTAL EN SALUD  
CAMPO DISCIPLINARIO: BIOQUÍMICA CLÍNICA

**“EVALUACIÓN DE POLIMORFISMOS DE UN SOLO NUCLEÓTIDO  
LOCALIZADOS EN EL PROMOTOR DE *IL-17A* Y SU ASOCIACIÓN CON  
SUSCEPTIBILIDAD Y GRAVEDAD EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO  
SISTÉMICO Y ARTRITIS REUMATOIDE.”**

TESIS

Que para optar por el grado de  
Doctor en Ciencias

P R E S E N T A

**M. en C. ISELA MONTUFAR ROBLES**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. JULIAN RAMÍREZ BELLO**

**PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCOTORADO EN CIENCIAS MEDICAS ODONTOLOGICAS Y  
DE LA SALUD**

Ciudad Universitaria, Cd. Mx. Marzo 2019.



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.

**Con cariño a mis Padres**

---

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Julián Ramírez Bello, al laboratorio de Enfermedades metabólicas y endocrinas del Hospital Juárez de México y a la Facultad de Química de la U.N.A.M. por las facilidades recibidas para desarrollar este proyecto.

A los miembros del Jurado Dr. Julián Ramírez Bello, Dr. José Manuel Fragoso, Dr. Gilberto Vargas Alarcón, Dr. Luis Guillermo Llorente Peters y Dr. Ramcés Falfán Valencia por las correcciones y aportaciones que hicieron a este trabajo.

---

## ÍNDICE.

<b>RESUMEN</b>	6
<b>1. INTRODUCCION</b>	7
Sistema inmunológico	7
Inmunovigilancia	8
La sinapsis inmunitaria	9
Autoinmunidad y enfermedades autoinmunes	10
Genética y autoinmunidad	11
<b>2. ARTRITIS REUMATOIDE</b>	12
Características de AR	12
Epidemiología	14
Etiología	14
Fisiopatología	15
Articulación sana	16
Los huesos	16
El cartílago	16
La cápsula articular	16
Membrana sinovial	17
Articulación con AR	18
Patogenia en AR	18
Activación de células T	18
Genética en la AR	22
<b>3. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO</b>	24
Características de LES	24
Epidemiología	26
Etiología	27
Fisiopatología	27
Genética en LES	30

---

<b>4. INTERLEUCINA 17</b>	<b>33</b>
Características de IL-17A	33
IL-17A y AR	38
IL-17A y LES	42
SNPs, en el genoma humano, su papel en <i>IL17A</i> y su relación con AR y LES	46
Selección de variantes	51
<b>5. JUSTIFICACION</b>	<b>52</b>
<b>6. HIPÓTESIS</b>	<b>53</b>
<b>7. OBJETIVOS</b>	<b>54</b>
<b>8. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>55</b>
Estrategia experimental	55
Aspecto ético	56
Población de estudio	56
Criterios de inclusión de casos con AR y LES	57
Criterios de exclusión de los casos	57
Criterios de inclusión de los controles	57
Criterios de exclusión de los controles	58
Calculo del tamaño de muestra	58
Extracción de DNA por salting-out	58
Genotipificación de SNPs de <i>IL17A</i>	59
Sondas Taqman	59
Análisis estadístico	61
<b>9. RESULTADOS</b>	<b>63</b>
Características de los participantes	63
Poder estadístico y Equilibrio de Hardy Weinberg	64

---

Frecuencias genotípicas y alélicas	64
Análisis de Haplotipos en AR	69
Análisis de DL en pacientes con AR y controles	69
Análisis de Haplotipos en LES	70
Análisis de DL en pacientes con LES y controles	71
<b>10. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>73</b>
<b>11. CONCLUSIONES</b>	<b>81</b>
<b>12. PERSPECTIVAS</b>	<b>82</b>
<b>13. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>83</b>
<b>14. ANEXOS</b>	<b>92</b>

---

## RESUMEN

La interleucina 17A (IL-17A) es una citocina proinflamatoria cuya función principal es la inducción de otras citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF $\alpha$ ), la Interleucina 6 (IL-6), y la interleucina 1 $\beta$ , las cuales participan en procesos inflamatorios y en la aparición de autoinmunidad. Recientes estudios han identificado polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en la zona promotora del gen *IL-17* que contribuyen a la aparición de enfermedades autoinmunes (EA) como la artritis reumatoide (AR) y el lupus eritematoso sistémico (LES) entre otras. Dada la importancia de esta citocina, el objetivo de este estudio fue definir si los SNP -737T/C (rs8193036), -444A/G (rs3819024), -197G/A (rs2275913), y -121G/A (rs8193037) del gen de *IL-17A* confieren riesgo para AR, LES o nefritis lúpica en una muestra de pacientes mexicanos. Se incluyeron 1,367 sujetos: 501 con AR, 367 con LES y 499 controles. Los SNP de *IL-17A* se determinaron utilizando un ensayo de discriminación alélica mediante sondas TaqMan y se analizaron bajo los modelos de herencia codominante, dominante y recesivo. Los resultados mostraron que los SNP -737T/C, -444A/G, 197G/A y -121G/A no son factores de riesgo para AR ni para LES en forma individual. Sin embargo, el haplotipo TAGA mostró una asociación con susceptibilidad para LES (OR 2.43,  $p = 0.004$ ) pero no para AR. Este es el primer estudio que muestra la asociación de *IL-17A* con LES.



# 1

---

## INTRODUCCIÓN.

### **Sistema Inmunológico**

El sistema inmunológico (SI) involucra a un conjunto de células, tejidos, órganos, etc., los cuales trabajan juntos para mantener la homeostasis o equilibrio interno frente a agresiones externas, ya sea de naturaleza biológica (agentes patógenos), físico-químicas (contaminantes, radiaciones, etc.), o internas (células cancerosas, restos apoptóticos, etc). El SI se encuentra compuesto por diversos tipos de células localizadas en distintos fluidos, tejidos, órganos, incluyendo la piel, timo, médula ósea, sistema linfático, bazo, así como en mucosas (Beutler B 2004). En la médula ósea se generan los neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, monocitos, células dendríticas (CD), y macrófagos, los cuales se movilizan a través de la sangre y el sistema linfático hacia los distintos órganos (Lozano Soto 2012). Cuando se habla del SI, se habla de protección contra agentes infecciosos externos o antígenos propios,

por lo que una de las funciones más importantes de la inmunidad es la inmunovigilancia.

### **Inmunovigilancia**

Este evento implica no sólo la protección contra agentes externos de daño y enfermedad -los cuales incluyen los biológicos; bacterias, virus, hongos y parásitos o químicos-físicos; mercurio, hidrocarburos, luz ultravioleta, radiación y otros-, sino también la protección contra agentes propios debido a procesos de envejecimiento, apoptosis o transformación por procesos neoplásicos. Esto implica la existencia de un mecanismo complejo de presentación y reconocimiento de antígenos, así como de un sistema de control y regulación que permite discriminar y aceptar lo “propio” y al mismo tiempo reconocer y atacar lo “extraño”, condición que se conoce como tolerancia inmunológica (Pollard K et al. 2005), la cual es definida como la falta de respuesta a un antígeno propio, provocada por la exposición previa a este.

En general, se puede hablar de dos tipos de tolerancia:

- a)** La central, que es llevada a cabo en los órganos linfoides primarios del SI (médula ósea y timo).
  
- b)** La periférica, la cual es llevada cabo en los órganos linfoides secundarios (bazo y ganglios).

El principal mecanismo en la regulación de la tolerancia central está dado por la apoptosis de los linfocitos inmaduros y autorreactivos, en donde el receptor antigénico reconoce con alta afinidad un antígeno propio, motivo por el cual, estas células son destruidas antes de madurar y salir a circulación generándose una selección negativa. Por otro lado si el receptor antigénico reconoce con baja o mediana afinidad al antígeno propio la selección es positiva y este linfocito puede salir a circulación permitiéndole escapar de la apoptosis. Es sobre esta población de células del SI que actúan los mecanismos de tolerancia periférica, que incluye anergia clonal, la cual es una inactivación funcional de linfocitos autorreactivos sin muerte celular, y la ignorancia inmunológica, que consiste en la ausencia de respuesta inmune cuyo mecanismo aún no es del todo conocido (Jadue N. et al. 2012).

### **La sinapsis inmunitaria**

El proceso de reconocimiento de antígenos (propios o extraños), activación e inicio de la actividad efectora de los linfocitos T, tiene lugar en los primeros pasos de la respuesta inmune, este evento requiere el intercambio de información entre la célula presentadora de antígeno (CPA) que ha identificado, atrapado y procesado el antígeno y el linfocito T. Este acontecimiento tiene lugar en una estructura formada entre ambas células, denominada sinapsis inmunitaria. La CPA aporta información al linfocito T a través de 3 tipos esenciales de señales:

- 1) La presentación del antígeno (propio o extraño) a través de moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, del inglés *major histocompatibility complex*) en humanos, se lleva a cabo por el sistema de

antígenos leucocitarios humanos (HLA, del inglés *human leukocyte antigen*) de la CPA. El antígeno es reconocido por el receptor de la célula T (TCR, del inglés *T-cell receptor*), localizado en la membrana del linfocito T.

- 2) Para que se dé la activación total de los linfocitos T, se necesita un segundo bloque de comunicación intercelular entre las células CPA y los linfocitos T, el cual se da a través de las moléculas coestimuladoras CD80 y CD86 de la célula CPA y CD28 del linfocito T.
- 3) El efecto mediado por citocinas e intensidad del tipo de respuesta que se efectuará (Serrano Hernández 2009).

### **Autoinmunidad y enfermedades autoinmunes (EA)**

La pérdida de la autotolerancia se relaciona con el desarrollo de autoinmunidad, lo cual en diversas ocasiones conlleva al desarrollo de EA, las cuales se caracterizan por una función anormal del SI (sistema inmunológico), por la presencia de células T y B autorreactivas, la existencia de diversos autoanticuerpos, y por una compleja patogénesis de etiología multifactorial, donde la genética y los factores ambientales son responsables de la aparición de este grupo de enfermedades (Costenbader K et al. 2012). Las EA pueden ser sistémicas (dirigidas a múltiples órganos y tejidos), como es el caso del lupus eritematoso sistémico (LES), o en tejidos específicos, como la esclerosis múltiple (contra la mielina), diabetes tipo 1 (contra las células beta pancreáticas) o artritis reumatoide (contra articulaciones). Si las EA no son diagnosticadas y tratadas oportunamente, estas ocasionan una disminución en la

calidad de vida de quien las presenta e incluso puede causar la muerte en etapas tempranas de la vida (Rose A et al. 2012). En México, las EA más comunes son artritis reumatoide (AR), LES y síndrome de Sjögren, entre otras (Tincani A et al. 2013).

### **Genética y autoinmunidad**

Cada individuo posee un fondo genético único que le confiere susceptibilidad o protección ante ciertas enfermedades, sin embargo, esta condición no es suficiente por sí sola para iniciar y desarrollar las diversas EA, esto significa que solo cuando se encuentra el factor genético y ambiental alterado es cuando estas patologías se presentan (Giancetti E et al. 2018). Los genes más frecuentemente implicados en el grupo de EA son aquellos que se encuentran y expresan en las diferentes células del SI y que están involucradas en el procesamiento, presentación, reconocimiento antigénico, señalización celular, apoptosis, inflamación, etc. (Jadue N. et al. 2012). Diferentes estudios de gen candidato o del genoma completo (GWAS, del inglés *genome-wide association study*), han identificado diversos genes involucrados en el desarrollo, gravedad y actividad de las EA, tales como el HLA (human leukocyte antigen), entre otras. Desde el punto de vista genético, las principales variantes identificadas asociadas con AR y LES son del tipo de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés *single nucleotide polymorphisms*), las cuales representan las variantes más ampliamente distribuidas a través de todo el genoma humano (Eyre-Walker YC, et al. 2014).

# 2

---

## ARTRITIS REUMATOIDE

### **Características de la AR**

La AR es una enfermedad autoinmune, idiopática, multifactorial, caracterizada por sinovitis simétrica de las articulaciones grandes y pequeñas, la cual conduce comúnmente a la destrucción articular progresiva y discapacidad, ocasionando una disminución de la calidad de vida, incapacidad física y un cuantioso coste económico para el paciente y familia (Firestein GS. 2003). La expresión clínica de la enfermedad es muy variada, abarcando desde formas leves a otras tan agresivas, que experimentan una rápida evolución que culmina con la destrucción de la articulación afectada y la limitación funcional.

Se estima que el costo médico en AR en nuestro país es de aproximadamente 50,000 pesos por paciente y el gasto de bolsillo del paciente es aproximadamente de 15,000

pesos por cada año. Se ha encontrado que el 15% del ingreso familiar se destina a gastos por AR, por lo que se le ha llegado a considerar como un gasto catastrófico en la economía familiar (Espinosa-Morales R et al. 2006).

En realidad, no hay características diagnósticas específicas en AR y los pacientes pueden tener una amplia gama de manifestaciones. Su diagnóstico se basa en una combinación de síntomas, signos, pruebas serológicas y hallazgos radiológicos, según lo establecido por el Colegio Americano de Reumatología (ACR, por sus siglas en inglés; *American College of Rheumatology*). En septiembre de 2010 se publicaron los nuevos criterios de clasificación para la AR, como resultado del esfuerzo conjunto realizado por la Liga Europea contra el reumatismo (EULAR) y el Colegio Americano de Reumatología (ACR), con el fin de mejorar la clasificación utilizada hasta ahora. El cuadro 1 muestra dichos criterios. El paciente deberá presentar 4 de los 7 criterios para ser diagnosticado con AR.

Criterios para la clasificación de la artritis reumatoide
<ul style="list-style-type: none"><li>• Rigidez matutina.- Durante al menos 1 hora. Presente durante al menos 6 semanas.</li><li>• Tumefacción.- (Observado por un médico).De 3 ó más articulaciones simultáneamente. Durante al menos 6 semanas.</li><li>• Tumefacción.- (OPM) De carpo, articulaciones metacarpofalángicas o interfalángicas proximales. Durante 6 ó más semanas.</li><li>• Tumefacción articular simétrica.- (OPM)</li><li>• Cambios radiológicos típicos.- En manos. Deben incluir erosiones o descalcificaciones inequívocas.</li><li>• Nódulos reumatoideos.</li><li>• Factor reumatoide sérico. Por un método que sea positivo en menos del 5 % de los controles normales.</li></ul>

**Cuadro 1. Criterios para diagnóstico de AR de acuerdo al ACR y EULAR.** Tabla tomada del ACR (<https://www.rheumatology.org/>).

La esperanza de vida de los pacientes con AR parece acortarse de 3-15 años, mientras el aumento en la tasa de mortalidad está más limitado a los pacientes con una afectación articular más grave y básicamente se atribuye a la infección y la hemorragia gastrointestinal (Choy E et al. 2001).

## **Epidemiología**

La AR está ampliamente distribuida en el mundo y constituye un problema de salud pública debido a su alta prevalencia, a sus graves consecuencias funcionales y al alto impacto económico y social. En países industrializados, la prevalencia de esta EA (enfermedad autoinmune) fluctúa entre el 0.5 al 2% en la población. En México, esta enfermedad afecta al 1.6% de la población en general, siendo el principal motivo de consulta en el servicio de reumatología (Peláez-Ballestas et al. 2011). La AR afecta principalmente al grupo etario con mayor capacidad laboral y productiva, es decir, entre los 30 a 50 años, aunque se sabe que puede presentarse a cualquier edad; su incidencia es de 15-200 casos por cada 100,000 habitantes. Todo lo anterior se ve reflejado en los altos índices de discapacidad laboral y pensión por invalidez provocando un gran impacto en la economía de las familias afectadas. La AR es más frecuentes en las mujeres que en varones (como pasa en el resto de EA), llegando alcanzar una proporción de 3-9:1, mujer, hombre, respectivamente (Gutiérrez-Oliva et al. 2012).

## **Etiología**

La etiología aún permanece sin conocerse completamente, pero se sabe cómo en todas las enfermedades multifactoriales, que su aparición está influenciada por



factores, extrínsecos como virus, bacterias, radiación, tabaquismo, etc y por factores intrínsecos como la edad, género y grupo étnico, y factores genéticos, todos los cuales, cuando se combinan generan su desarrollo.

Entre los microorganismos que se han asociado con su aparición se encuentra el virus *Epstein-Barr* o *parvovirus B19*, las bacterias *Streptococcus*, *Mycoplasma*, *Proteus* y *E. coli*. Por otro lado, los principales genes asociados a esta patología son el *HLA clase II*, *PTPN22* (fosfatasa de tirosina no receptor 22, del inglés *protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22*), *STAT4* (transductor de señalización y factor de transcripción 4), *TRAF1* (factor 1 asociado al receptor TNF, del inglés *TNF receptor associated factor 1*), *TNF- $\alpha$*  (factor de necrosis tumoral alfa, del inglés *tumor necrosis factor*), entre otros (Karlson E et al. 2012).

### **Fisiopatología**

Como se ha mencionado anteriormente, la AR es una EA crónica caracterizada por una inflamación de las articulaciones. Las articulaciones proporcionan la movilidad y estabilidad necesaria para los distintos segmentos esqueléticos. Normalmente, las articulaciones están formadas por los extremos de dos o más huesos, por el cartílago articular, cápsula articular y membrana sinovial

## **Articulación Sana**

### **Los huesos**

Los huesos constituyen el componente básico de la articulación, la forma de los extremos óseos varía dependiendo de cada articulación. La proximidad de estos extremos óseos condiciona la movilidad de los segmentos esqueléticos involucrados.

### **El cartílago**

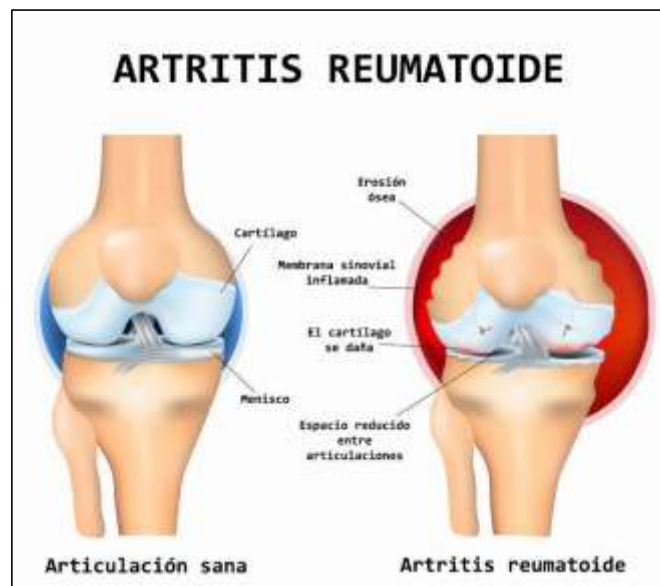
Los extremos óseos no se contactan directamente entre sí, dado que entre ellos se encuentra una capa de tejido elástico llamado cartílago articular, el cual evita las fricciones y por tanto el desgaste de los extremos óseos. En las articulaciones grandes como las de las rodillas y caderas, el cartílago articular tiene aproximadamente unos 3.4 mm de grosor, mientras las pequeñas como las de los dedos el cartílago, mide solo una fracción de milímetro. La figura 1 muestra los componentes de una articulación sana.

### **La cápsula articular**

Es una membrana que engloba toda la articulación. Esta membrana está formada por dos capas, una externa fibrosa y resistente unida a los huesos, lo que proporciona una estabilidad a toda la estructura, y una membrana interna que es blanda, y la que se denominada “membrana sinovial” (Romero et al. 2010).

## Membrana Sinovial

Se encuentra cubriendo la superficie interna de la cápsula articular y su función es sintetizar un fluido viscoso llamado líquido sinovial o articular, este líquido rellena la cavidad articular y actúa como lubricante reduciendo así el roce entre las estructuras de la articulación. La membrana sinovial contiene células inmunitarias que participan en la defensa de la articulación contra patógenos, y es en esta membrana donde se producen las reacciones inflamatorias de la AR. La figura 1 muestra una articulación sana y una articulación con AR (Martínez Larrarte et al.).



**Figura 1. Articulación sana y afectada con AR.** Una articulación sana está formada por la capsula articular, la membrana sinovial, los cartílagos y los huesos adyacentes. Una articulación con AR presenta inflamación de la membrana sinovial, daño de cartílago y erosión de hueso.

## **Articulación con AR**

Las lesiones articulares en AR se producen como consecuencia de la inflamación articular. Las alteraciones iniciales empiezan como una inflamación en la membrana sinovial o sinovitis, la cual se caracteriza por una proliferación y acumulación de diversos tipos de células inmunológicas, por una alta expresión de interleucinas (IL) o citocinas, así como por una producción excesiva de líquido sinovial. La fase aguda de la sinovitis es la causante de los síntomas y manifestaciones típicas de las etapas iniciales de AR. Con el tiempo, la sinovitis se hace crónica generando así que la membrana sinovial se engrose y se produzca dentro de su espesor un nuevo tejido invasor, parecido a una cicatriz y el cual es definido como *pannus*. Si la AR no se trata a tiempo, el *pannus* crece poco a poco hacia el interior de la articulación hasta llegar a infiltrarse en el cartílago articular, pudiendo llegar a lesionar los extremos óseos de la articulación y provocar erosiones. En fases avanzadas de la AR, las lesiones articulares originan rigidez y deformaciones articulares (Romero et al. 2010).

## **Patogenia en AR**

A nivel celular, la patogenia en AR es compleja y en ella intervienen diferentes tipos de células como los sinoviocitos, macrófagos, linfocitos T, B, monocitos, etc. Todas estos tipos celulares contribuyen en la transformación hacia un fenotipo de destrucción del cartílago y erosión del hueso (Herrero-Beaumont et al. 2012).

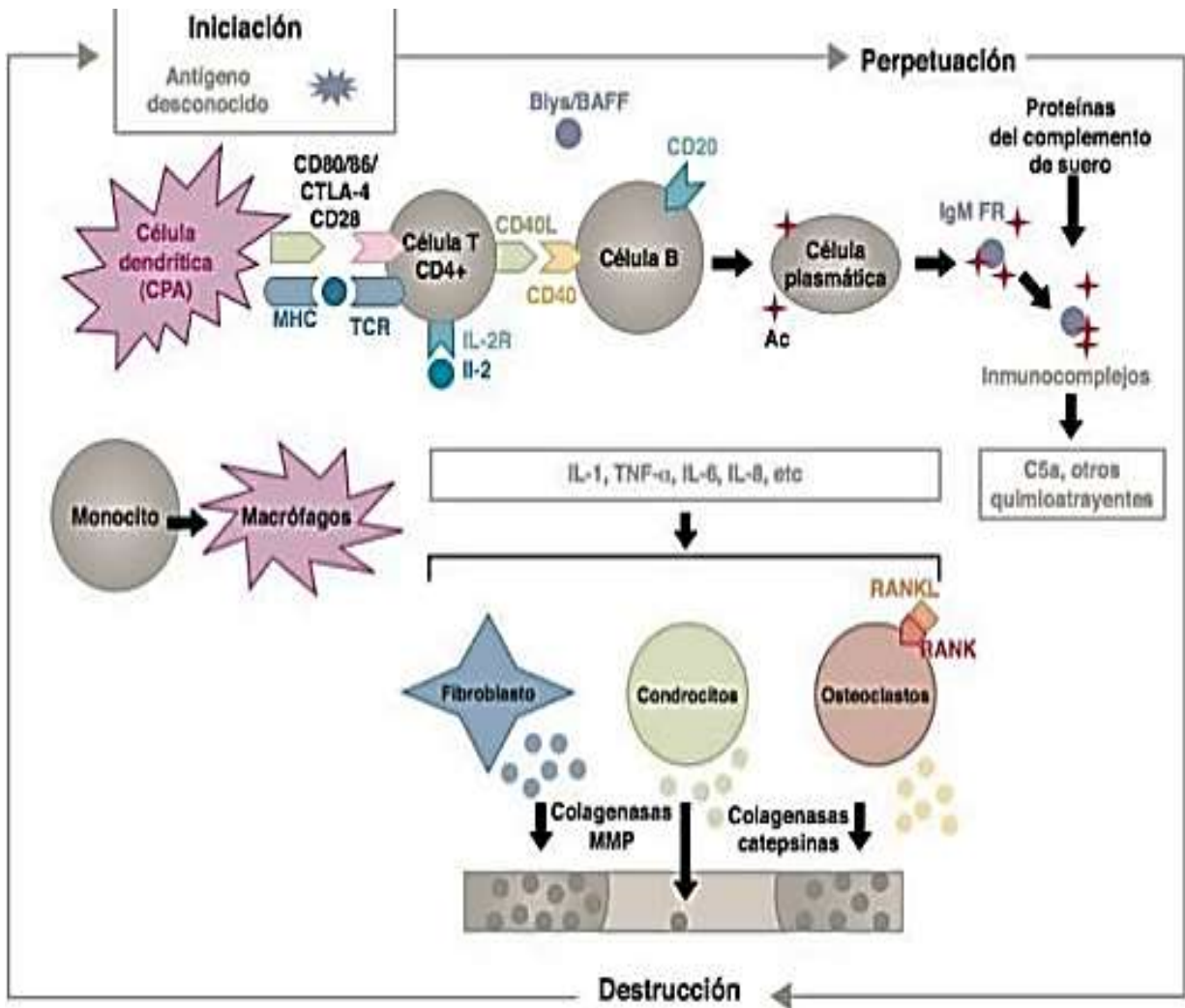
## **Activación de las células T**

Se ha documentado que el inicio de la enfermedad se origina cuando se dispara la activación de las células T, y la cual requiere de la participación de dos grupos de

receptores de membrana localizadas en las CPA (células presentadoras de antígeno). El primer receptor lo emplea la CPA para presentar a las células T un antígeno específico que ha sido previamente procesado por dicha célula. El linfocito T se organiza a través de un complejo trimolecular que conforman: 1) el HLA presente en las CPA, 2) el antígeno frente al que se desarrolla la respuesta inmunitaria y 3) el TCR específico para ese antígeno (Herrero-Beaumont et al. 2012). Sin embargo, para que se active completamente el linfocito T es necesario una segunda fase de comunicación intercelular entre las CPA y este tipo celular, lo cual se logra a través de moléculas coestimuladoras, tales como la unión de CD80/CD86 en la membrana de las CPA y el receptor CD28 de los linfocitos T. La activación de estas dos fases desencadena una intensa señalización intracelular en las células T, la cual es imprescindible para su completa activación, proliferación, activación y producción de citocinas. Después de 24-48 horas de producirse la activación, la misma señalización intracelular inicia un mecanismo regulador para desactivar la propia respuesta, induciendo así la expresión en la membrana de moléculas como CTLA4 (proteína 4 asociada a linfocitos T citotóxicos, del inglés *cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4*), con el fin de competir con CD28. La figura 2 muestra estos eventos (Herrero-Beaumont et al. 2012).

La estimulación de los linfocitos T cooperadores (CD4<sup>+</sup>) y de los linfocitos T citotóxicos (CD8<sup>+</sup>) dependen de la coestimulación del receptor CD28 y del reconocimiento de los péptidos presentados por el HLA-II presente en las CPA. Se propone que la AR es causada por una respuesta anormal originada por un antígeno propio o extraño no identificado y de la presentación del mismo mediante un HLA alterado, además de otras alteraciones genéticas, ambientales e inmunológicas. Dentro de los posibles

antígenos propios en AR, se incluyen proteínas citrulinadas, glucoproteínas del cartílago humano, etc. (Sánchez-Ramón et al. 2011, Choy E. et al. 2001). La activación de células T CD4<sup>+</sup> en AR, representa el inicio de una cascada de eventos proinflamatorios que lleva a la producción de diferentes citocinas y de la inducción de proliferación celular, que en caso de perpetuarse, da lugar a una inflamación crónica; involucrada en la destrucción de las articulaciones (Figura 2). Las citocinas producidas por las células T CD4<sup>+</sup> estimulan monocitos, macrófagos y fibroblastos sinoviales a generar IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ , llevando a la estimulación en la secreción de metaloproteinasas (MMPs, del inglés *matrix metalloproteinases*) de matriz, las cuales están involucradas en la destrucción del cartílago y erosión del hueso. Las células T CD4<sup>+</sup> también estimulan a las células B a producir inmunoglobulinas incluyendo el factor reumatoide (RF, del inglés *rheumatoid factor*). El papel patogénico del RF es desconocido, aunque se ha asociado con la activación del complemento a través de la formación de complejos inmunes. Por otro lado, en la membrana sinovial se ha observado una proliferación de células infiltradas provenientes del torrente sanguíneo incluyendo linfocitos B y T, mientras, los monocitos diferenciados en macrófagos, así como los osteoclastos, activan a los condrocitos articulares. De esta manera, la membrana sinovial de los pacientes con AR se caracteriza por presentar hiperplasia e hipervascularidad (Herrero-Beaumont et al. 2011).



**Figura 2. Fisiopatología de AR.** La CPA expone un antígeno propio o extraño a la célula T CD4+, la cual una vez activada, estimula a la célula B a producir autoanticuerpos, estos anticuerpos han sido asociados con daño articular. La producción de citocinas genera la síntesis de metaloproteinasas involucradas en la destrucción del cartílago y erosión del hueso. CPA: célula presentadora de antígeno; MHC: complejo principal de histocompatibilidad; TCR: receptor de células T; CTLA4: proteína 4 asociada al linfocito T citotóxico; Ac: anticuerpos; C5a: fracción 5a del complemento; FR: factor reumatoide; Ig: inmunoglobulina; IL: interleucina; MMP: metaloproteasas de matriz extracelular; RANK: receptor activador del factor nuclear kappa B; RANKL: ligando de receptor activador para el factor nuclear kappa B; T; TNF: factor de necrosis tumoral. Tomado de Herrero-Beaumont. Reumatol Clin. 2012 8(2):78–83.

## **Genética en la AR**

Varios estudios han documentado que en AR existe una cierta predisposición genética, observándose hasta cuatro veces más en familiares de primer grado de individuos que presentan esta EA (Moreno J et al. 2008). Por su parte, la concordancia en gemelos monocigotos (GM) con AR es del 12-15%, la cual es relativamente baja cuando se compara con otras EA, tales como LES (aproximadamente 30%). Por su parte, el riesgo de recurrencia para hermanos de pacientes con AR comparado con la población general es de 2-10 veces mayor. Adicionalmente, se ha estimado que la heredabilidad es del 60-70%, siendo un 68% para pacientes con anticuerpos anti-cíclicos citrulinados (ACPA) positivos y un 66% para aquellos pacientes negativos, lo cual significa que el principal factor de riesgo para desarrollar AR es la genética alterada. (Rodríguez-Elias et al. 2016).

Las principales variantes genéticas evaluadas en esta EA son los SNP, los cuales se localizan tanto en genes codificantes como en los no codificantes de proteínas (por ejemplo, en los miRNA), y los cuales se encuentran localizados en genes involucrados en la regulación de la respuesta inmunológica innata y adaptativa (Rodríguez-Elias et al. 2016). A la fecha, han sido descritos más de 100 *loci* asociados con susceptibilidad, protección, gravedad, actividad y respuesta a tratamiento en AR; ejemplo de estos son los del *HLA* de clase II, aquellos que participan en la síntesis de citocinas, moléculas adaptadoras, integrinas, proteínas intracelulares, miRNA, entre otros; y los cuales influyen de manera importante en la patogénesis de AR (Barton A et al. 2009, Gregersen PK et al. 2010).



Dentro de los genes cuya asociación con susceptibilidad ha sido demostrada en AR se encuentra *PTPN22* (localizado en el cromosoma 1p13.3), y el cual representa el segundo *loci* de susceptibilidad más importante asociado con esta EA (solo después del HLA). En 2004, un estudio de gen candidato y uno de GWAS identificaron que el SNP R260W confirió susceptibilidad para diabetes mellitus tipo 1, AR y LES (Stahl 2010). Por otro lado, el SNP rs10818488G/A del gen *TRAF1-C5* (factor asociado 1 al receptor del factor de necrosis tumoral-componente 5 del complemento), se encontró asociado con AR. Otro SNP localizado en esta misma región y que también se asoció con AR fue el rs3761847A/G. Por su parte, el gen *STAT4* localizado en la región 2q32.3, ha mostrado también una fuerte asociación con AR y LES (SNP que ha mostrado una mayor asociación es el rs7574865G/T). Otro gen importante de susceptibilidad para AR es *TNFAIP3*, el cual se localiza en el cromosoma 6p23 y codifica para la proteína 3 inducida por TNF (*TNFIP3*), estudios de meta-análisis mostraron que el SNP rs6920220A/G de este gen es el que se asoció principalmente con AR. Importantemente, variantes tipo SNP en genes que codifican interleucinas tales como *IL-17A* han sido poco evaluados en AR, sin embargo, los resultados han sido controversiales, pues mientras algunos autores muestran una asociación con la enfermedad (Nordang G et al. 2009; García de la Peña 2017), otros estudios no replican este hallazgo, tal es el caso del SNP rs2275913G/A del gen *IL-17* en población polaca (Pawlik et al. 2016, Bogunia-Kubik et al. 2014), y de Tunez (Dhaouadi et al. 2018).

# 3

---

## LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

### Características del LES

El LES representa una EA, inflamatoria y sistémica, en la que diversos autoanticuerpos y complejos inmunes patogénicos ocasionan la destrucción de diversas células y tejidos, causando diferentes rasgos clínicos y afectación a distintos órganos y sistemas, tales como el riñón, piel, mucosas, articulaciones, pulmón, cerebro, corazón y células sanguíneas (Tsokos G. 2011). El término lupus proviene del latín 'lobo', debido a que los médicos del siglo pasado veían que el rostro inflamado de los pacientes con LES adoptaba una similitud a la cara de un lobo. La enfermedad normalmente exhibe en la nariz y las mejillas un eritema malar con forma de alas de mariposa, lo que creaba lesiones que se parecían a los mordiscos o arañazos de un lobo (Alarcón Segovia. 2013).

En el LES se produce pérdida en la capacidad de reconocer lo propio de lo extraño, y un desbalance entre fuerzas antagonistas proinflamatorias y antiinflamatorias. Esta pérdida de tolerancia inmunológica es producto de una defectuosa interrelación entre varios factores causales que condicionan la aparición de autoantígenos que son presentados a células efectoras responsables de producir autoanticuerpos. La producción de complejos inmunes genera inflamación aguda y/o crónica, así como daño tisular dependiente de complemento, lo que causa síntesis excesiva de citocinas, infiltración y aumento en la función de diversas células al sitio de lesión, lo cual puede afectar cualquier órgano o sistema (Gatto M et al. 2013).

Los pacientes con esta patología son diagnosticados de acuerdo a los criterios establecidos por el ACR 1997, para que un paciente sea diagnosticado con esta EA debe presentar al menos cuatro de los once criterios, incluida la inflamación del pericardio, de las articulaciones y músculos, trastornos hematológicos e inmunológicos, y lo más significativo; autoanticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares (como ADN bicatenario, riboproteínas nucleares pequeñas, cromatina e histonas) o, en menor medida, antígenos citoplásmicos (Martínez-Godoy et al. 2012; Guías de Práctica Clínica en el SNS, GPC\_549\_Lupus\_SESCS\_compl.pdf España 2015). Los criterios de clasificación para LES se presentan en el cuadro 2.

. Criterios diagnósticos de lupus eritematoso sistémico. (American Rheumatism Association, 1982)	
1)	Eritema malar
2)	Eritema discoide
3)	Fotosensibilidad
4)	Úlceras orales
5)	Artritis
6)	Serositis
	- Pleuritis
	- Pericarditis
7)	Nefropatía
	- Proteinuria > 0,5 g/día y/o cilindros celulares
8)	Encefalopatía
	- Convulsiones
	- Síncosis
9)	Alteraciones hematológicas
	- Anemia hemolítica
	- Leucopenia < 4.000 elementos/mm <sup>3</sup>
	- Linfopenia < 1.500 elementos/mm <sup>3</sup>
	- Trombopenia < 100.000 elementos/mm <sup>3</sup>
10)	Alteraciones inmunológicas
	- Células LE o
	- Ac anti DNA nativo o
	- Ac anti Sm o
	- VDRL falso positivo
11)	Anticuerpos antinucleares

**Cuadro 2. Criterios para diagnóstico de LES.** Tomada de American College of Rheumatology (<https://www.rheumatology.org/>)

## Epidemiología

Se estima que hay cinco millones de personas que padecen LES en todo el mundo. La prevalencia de esta enfermedad es de 1 caso por cada 250 000 individuos vivos, donde el 90% de los casos corresponden a mujeres afectadas, con una relación mujer:hombre de 3:1 antes de la pubertad y de 9:1, después de esta. La edad de aparición se da entre los 20 a 40 años. Datos epidemiológicos muestran que el LES representa la segunda enfermedad más frecuente en la consulta de reumatología. En México se ha reportado una prevalencia de 0.7%, teniendo una incidencia de 1.8 a 7.6 casos/100,000 habitantes y, se sabe que más de la mitad de los enfermos desarrollan daño permanente en diferentes órganos y sistemas (Alarcón Segovia. 2013). El LES

aparece en todos los grupos étnicos, sin embargo, su prevalencia no está distribuida igualmente en todos ellos, pues se presenta con mayor frecuencia en individuos con ancestría africana (Martínez-Godoy et al. 2012, Alarcón Segovia. 2013; Guía de Práctica Clínica, 2011).

### **Etiología**

Aunque la etiología del LES no se comprende aun completamente, los estudios muestran claramente que esta EA se desarrolla por una interacción compleja entre el fondo genético, ambiental e inmunológico (Santos EC et al. 2016). De esta manera, en la aparición del LES intervienen diversos factores de riesgo que incluyen radiación ultravioleta, drogas, agentes infecciosos y agentes químicos, los cuales han sido descritos como factores potenciales para esta enfermedad (Santos EC et al. 2016). Similar a la AR, en el LES la mayoría de las pacientes son mujeres, sugiriendo cierto papel de las hormonas en su aparición.

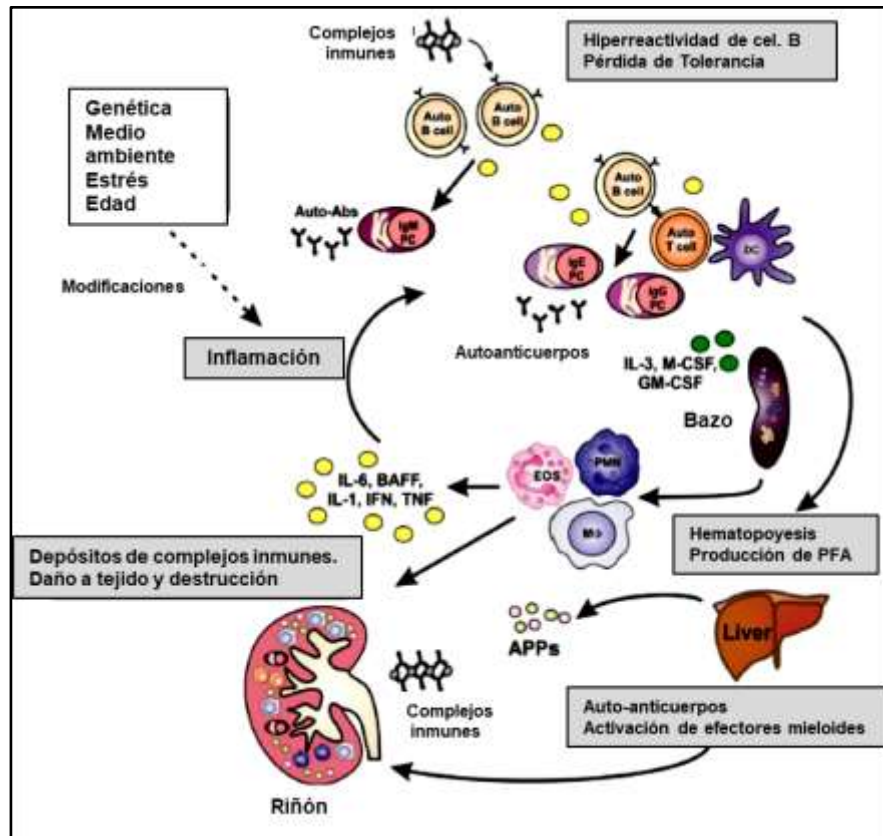
### **Fisiopatología**

Los linfocitos B y T autorreactivos muestran diferentes anormalidades en las vías de señalización y activación. La respuesta de los linfocitos T autorreactivos al antígeno propio o extraño es desencadenada cuando el TCR (receptor de la célula T) reconoce el complejo formado por el antígeno propio o extraño y el HLA-II en la superficie de la CPA (célula presentadora de antígeno). Diferentes tipos de células del SI actúan como células CPA incluyendo los linfocitos B, CD (células dendríticas) y macrófagos (Cubides HH et al. 2015). Dentro de los elementos antigénicos que pueden generar el desarrollo de LES se incluye apoptosis alterada, eliminación defectuosa de restos

celulares, formación y perpetuación de autoanticuerpos que conducen al daño, así como una gran cantidad de defectos en la señalización de células B y T (Gatto M et al. 2013) (Figura 3). Se ha postulado que en el LES también existe alteración en la muerte celular por apoptosis, sin embargo, por diversas anomalías genéticas, en los pacientes con LES se presenta deficiencia en la eliminación de restos celulares o cuerpos apoptóticos. También han sido detectados defectos en la eliminación y limpieza de células apoptóticas que contienen desechos celulares, los cuales activan a macrófagos con la posterior presentación de antígenos a las células B. De esta manera, todos estos tipos celulares contribuyen en la patogénesis del LES a través de la perpetuación del daño en la lesión tisular. En condiciones homeostáticas, los restos apoptóticos son fagocitados por macrófagos especializados, por CD o bien por neutrófilos. Tras la ingestión de células apoptóticas, los macrófagos fragmentan los antígenos en pequeños pedazos, la unión de los cuerpos apoptóticos a residuos de manosa es crucial para su fagocitosis por parte de las CD inmaduras, lo que lleva a la producción de IL-10, IL-6 y  $TNF\alpha$ , resultando en una eliminación no inflamatoria de estos desechos (Enríquez-Mejía 2013). Si los restos apoptóticos no son eliminados adecuadamente llegan a un estado de necrosis secundaria, frente a lo cual aparecen nuevas situaciones autoinmunes, las cuales pueden tener un papel importante en la etiopatogenia de LES. La activación anormal de células T y B autorreactivas permite la producción de autoanticuerpos patogénicos, complejos inmunes y citocinas inflamatorias, los cuales inician y amplifican la inflamación, así como el daño de varios tejidos u órganos (Enríquez-Mejía. 2013), la figura 3 ilustra estos eventos. La inflamación y los complejos inmunes que contienen autoantígenos de ácido nucleico

pueden participar y activar los receptores tipo Toll (TLR, del inglés Toll-like receptor) endosomales en LES (Gottschalk T et al. 2015).

El depósito de los complejos autoantígeno-autoanticuerpo puede ocurrir en varios tejidos y órganos, resultando en una respuesta inflamatoria local y destrucción del tejido afectado. Generalmente, los sitios afectados en LES son la piel, el sistema nervioso, articulaciones, músculos, y riñón. La progresión de la enfermedad no es lineal y sigue un curso de recaída-remisión, y debido a su naturaleza heterogénea, puede variar ampliamente de un paciente a otro, lo que hace que el diagnóstico y el tratamiento sean un desafío. Numerosos factores, incluyendo la composición genética, el medio ambiente, la dieta y el estrés, pueden modificar el curso y la gravedad de la enfermedad (Gottschalk T. et al. 2015).



**Figura 3. Fisiopatología de LES.** La presentación de un autoantígeno a las células T desencadena la hiperreactividad de las células B y la pérdida de tolerancia inmunológica. Por su parte, la formación de autoanticuerpos por parte de las células B promueve la síntesis de citocinas proinflamatorias estimulando la hematopoyesis extramedular y conduciendo a la síntesis de proteínas de fase aguda (PFA) y a la expansión de neutrófilos, monocitos y eosinófilos que estimulan a su vez la deposición de complejos autoinmunes a órganos vitales como el riñón dañando y destruyendo el tejido. DC: células dendríticas; M-CSF: factor estimulante de colonias de macrófagos; GM-CSF: actor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos; IgE: inmunoglobulina E; IgG: inmunoglobulina G; IL-3: Interleucina 3; PMN: polimorfonucleares; EOS: eosinófilos; PFA: proteínas de fase aguda. (Gottschalk T. et al. 2015).

### Genética en LES

El componente genético en LES se identificó en sus inicios por la agregación familiar (10-20%) y la alta concordancia en GM (24-58%), la cual es aproximadamente 10 veces mayor que en GD (2-5%) (Rivas-Larrauri et al. 2016). El LES es más frecuente en los familiares de pacientes con esta enfermedad que en la población en general.



Estudios en familias, han identificado genes o regiones cromosómicas del genoma humano fuertemente ligados a la presencia de LES (Kittaris VC. 2010). La base genética del LES fue inicialmente sugerida y calculada por las estimaciones de heredabilidad, la cual es aproximadamente del 66%. Estudios posteriores de gen candidato y/o GWAS han tenido una amplia utilidad para identificar *loci* asociados con susceptibilidad o gravedad en LES. Actualmente, más de 60 genes de susceptibilidad han sido identificados en esta EA, los cuales aumentan el riesgo para su desarrollo (Ramos PS et al. 2014; Dai C et al. 2014). De estos estudios se ha identificado que la señal de asociación más fuerte es la de la región HLA, mientras, en poblaciones con un mayor porcentaje de ancestría amerindia es el gen *IRF5*, el cual codifica para el factor 5 regulador del INF (Alarcón-Riquelme et al. 2016). Además, otros *loci* no HLA de susceptibilidad para LES son aquellos involucrados en la cascada del complemento (subunidad alfa M de la integrina o *ITGAM*, del inglés *integrin subunit alpha M*), la activación de células B (Receptor 2A del fragmento Fc de la inmunoglobulina gamma o *FCGR2A*, del inglés *Fc fragment of IgG receptor IIa*), componentes de la vía de señalización del interferón de tipo I (*IRF5*, *TNFAIP3* [Proteína 3 inducida por TNF- $\alpha$ , del inglés *TNF alpha induced protein 3*]), proteínas reguladoras de la transducción de señales en células B y T (*BLK* [Tirosina-cinasa de células B, del inglés *BLK proto-oncogene, Src family tyrosine kinase*], *BANK1* [proteína 1 de andamiaje de células B con repetidos de ankirina, del inglés; *B cell scaffold protein with ankyrin repeats 1*], *PTPN22*, y *CTLA4*) y otras proteínas implicadas en la regulación inmune, inflamación, quimioatracción, maduración de las células dendríticas y la pérdida de la tolerancia inmunológica. Cabe mencionar que los genes *HLA*, *STAT4*, *ITGAM*, *IRF5*, *BANK1*,

*FCGR2A* y *PTPN22* son solo algunos de los que han mostrado un mayor nivel de asociación con LES de adulto; además, *STAT4*, *ITGAM*, *IRF5* y *PTPN22* han mostrado una asociación también con LES pediátrico (LESp) en población mexicana (Velázquez-Cruz et al. 2012; Ghodke-Puranik et al. 2015). Por otro lado, estudios recientes llevados a cabo en nuestra población indican que el SNP -308G/A de *TNF* está fuertemente asociado con asma, AR juvenil y LESP, además la estratificación por género mostró que el SNP -308G/A confiere mayor riesgo en niñas que en niños con LES (Jiménez-Morales et al. 2009). Por su parte, el SNP rs7574865G/T de *STAT4* mostró asociación con LES, indicando que este polimorfismo confiere riesgo para el desarrollo de la enfermedad, la estratificación por género mostro que este polimorfismo confiere mayor riesgo en mujeres que en hombres (Beltrán Ramírez et al. 2016). Finalmente, estudios recientes han mostrado que los SNP rs2736340T/C y rs13277113A/G del gen *BLK*, y el SNP R61H del gen *BANK1* esta asociados con protección contra LES en población mexicana (Montúfar-Robles et al. En revisión). Es importante mencionar que otros *loci* han sido escasamente evaluados en LES, así por ejemplo, variantes tipo SNPs localizados en el gen *IL-17A*, no han sido analizados en pacientes con LES de adultos, por lo que hasta ahora se desconoce su papel en la susceptibilidad para esta EA.

# 4

---

## INTERLEUCINA 17

### Características de la IL-17A

La interleucina 17-A (IL-17A) es secretada principalmente por células T activadas. A la fecha se han identificado además de la IL-17A, cinco miembros más de esta familia, las cuales se conocen como IL-17B; IL-17C; IL-17D; IL-17E e IL-17F. El gen que codifica para la IL-17A se encuentra en la citobanda cromosómica 6p12 del genoma humano, ubicación compartida con *IL-17F*. La localización cromosómica del resto de miembros de esta familia es la siguiente: *IL-17B* en 5q32, *IL-17C* en 16q24, La *-17D* en 13q11, finalmente *IL-17E* se localiza en la región 14q11.1 (Vélez Marín et al. 2007).

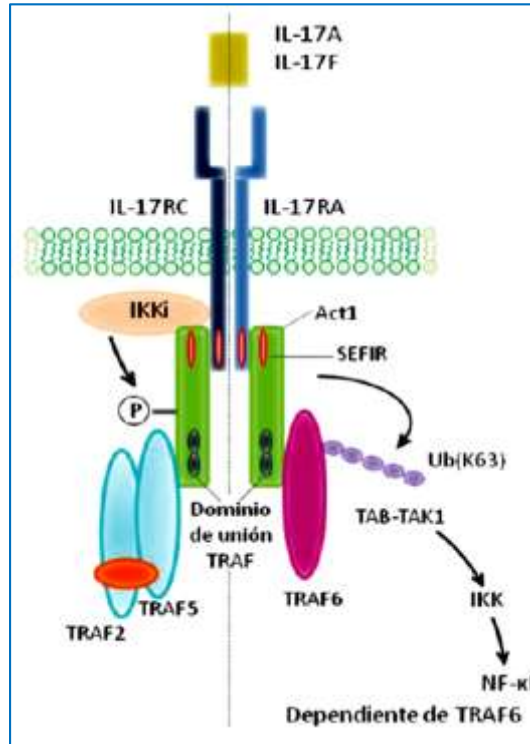
La IL-17A formada por 150 aminoácidos y por 15 KDa de peso molecular, es secretada como una glucoproteína homodimérica unida por puentes disulfuro con un peso molecular total de entre 30-35 KDa. Los demás miembros de la familia IL-17 tienen

una homología entre 20 y 50% con esta proteína, siendo la IL-17F la de mayor similitud, lo que se observa en sus funciones biológicas y un peso molecular similar (Vélez Marín et al. 2007).

La IL-17A desempeña un papel clave en la defensa del huésped contra bacterias y hongos patogénicos. Estudios experimentales indican que esta citocina es una poderosa proteína proinflamatoria con capacidad de desencadenar fenómenos inflamatorios, los cuales contribuyen al daño generalizado. La IL-17A e IL-17F pueden llegar a formar homodímeros y heterodímeros. Algunas alteraciones en la señalización de IL-17A e IL-17F se han vinculado en diferentes EA (enfermedades autoinmunes). Tanto las formas homodiméricas como las heterodiméricas de IL-17A e IL-17F pueden unirse al mismo receptor de IL-17, el cual es un complejo de membrana heterodimérico compuesto de las subunidades IL-17RA e IL-17RC. La acción de IL-17 ocurre principalmente en células epiteliales, células endoteliales y fibroblastos, aunque los macrófagos y las CD también son sensibles a esta citocina (Martin JC et al. 2014).

La IL-17A se une a su receptor (IL-17RA) con mayor afinidad en comparación con la IL-17F en humanos. Se conoce que el IL-17RA se expresa en tejido hematopoyético, células mieloides, epiteliales, endoteliales, fibroblastos y osteoblastos (Flores García et al. 2012). A diferencia de otros receptores de citocinas, las subunidades del IL-17RA son pre-ensambladas en la membrana plasmática antes de unirse a su ligando, esto le permite responder de manera rápida y específica (Figura 4). La eliminación del IL-17RA anula completamente la actividad de la IL-17A y de IL-17F en ratones. El análisis

de los mecanismos precisos de cómo se lleva a cabo la señalización de IL-17 aún no ha sido completamente esclarecido (Flores García et al. 2012).



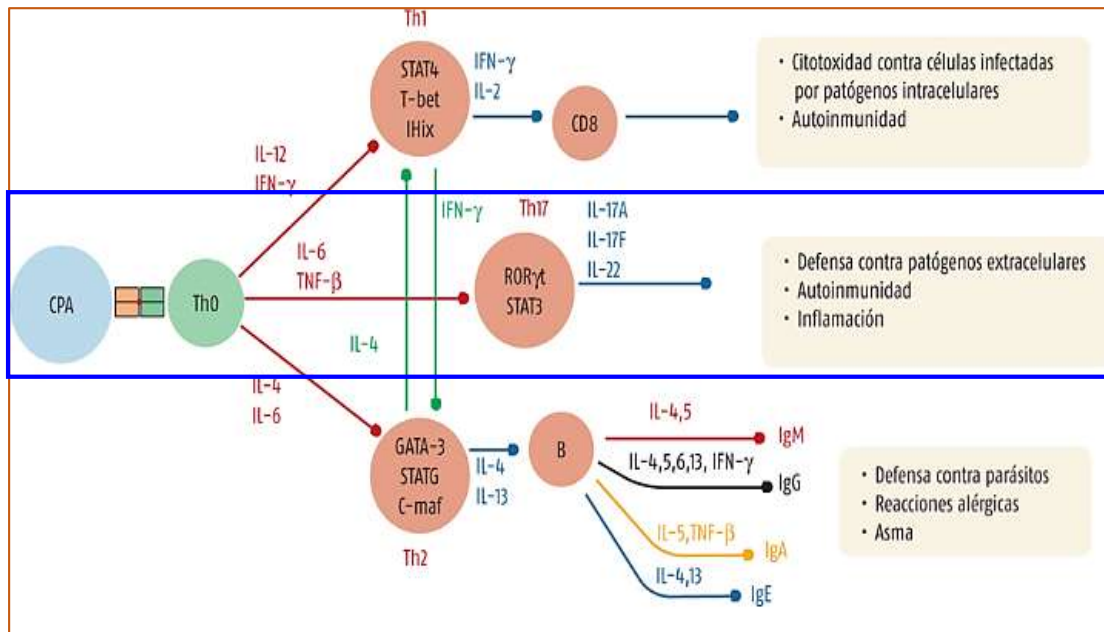
**Figura 4. Vía de señalización de IL-17.** Después de la estimulación con IL-17, la proteína Act1 y las proteínas IL-17RA o C, interaccionan a través del dominio SEFIR, provocando la unión de otras proteínas río abajo de la cascada de señalización, lo que conlleva finalmente a la activación del factor de transcripción Nf-κB y a la inducción de expresión de diferentes proteínas proinflamatorias, (Flores-García 2012).

Varios estudios han mostrado que la IL-17 activa la vía de señalización y activación del factor nuclear κB (NF-κB, del inglés *nuclear factor kappa B*), en conjunto con Act1 (actina 1) y la ligasa E3 de ubiquitina. La IL-17A induce la expresión de genes proinflamatorios de manera parecida a como lo hacen los receptores tipo Toll (TLRs, del inglés; *Toll-like receptors*). Se ha documentado que el factor 6 asociado al receptor del factor de necrosis tumoral (TRAF6), el cual es un adaptador clave en la vía de señalización de los TLR, es indispensable para llevar a cabo la activación del NF-κB

mediada por la IL-17 (Figura 4) (Flores-García 2012). Por otro lado, el complejo IL-17A/ IL-17F está involucrado en procesos inflamatorios mediado predominantemente por los neutrófilos. Específicamente la IL-17 se ha relacionado como una citocina de respuesta a procesos infecciosos por microorganismos extracelulares, procesos inflamatorios crónicos de autoinmunidad y asma (Li et al. 2015). La IL-17 induce la expresión de IL-6, la cual promueve la diferenciación de células T CD4<sup>+</sup> a Th17, así como el TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , las cuales sinergizan con la IL-17. La IL-17 también conduce a la producción de factores de crecimiento, factores de remodelación de tejidos y diversos péptidos antimicrobianos ( $\beta$ -defensinas, proteínas S100, lipocalina 2) (Martin JC et al. 2014; Nalbandian A. et al. 2009).

Las células T CD4<sup>+</sup> pueden subdividirse en varios subpoblaciones e incluyen linfocitos Th1, Th2, células T reguladoras (T reg) y células Th17, en función de las citocinas que sintetizan, expresen, y de los factores de transcripción que influyen en su polarización (Cubides HH et al. 2015). Las citocinas implicadas en el control de la actividad de las células Th17 son la IL-23, el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ , del inglés; *transforming growth factor beta*) y la IL-6, estas dos últimas además promueven la diferenciación de los linfocitos vírgenes en linfocitos Th17, mientras la IL-23 induce la proliferación de estas células. La IL-17A es secretada por las células T CD8<sup>+</sup>, células T CD4<sup>+</sup> y células T doblemente negativas (CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup>), así como las células asesinas naturales (*natural killer*), mastocitos, neutrófilos, CD y macrófagos (Qian W et al. 2012, Serrano Hernández et al. 2009).

Durante el desarrollo de la autoinmunidad, las células Th17 se infiltran en los órganos afectados, lo que resulta en daño tisular. La actividad de las células Th17 en el contexto de la autoinmunidad depende del microambiente de las citocinas. *In vitro*, la diferenciación de células T vírgenes a células Th17 se da a través del TCR (receptor de células T) y de moléculas coestimuladoras, del TGF- $\beta$ , IL-6, IL-21, IL-23 e IL-1 $\beta$ . Las células Th17 pueden experimentar tres etapas distintas de desarrollo: diferenciación, amplificación y estabilización. Importantemente, se requiere TGF- $\beta$  para la expresión del receptor huérfano retinoico  $\gamma$ t (ROR $\gamma$ t), un factor de transcripción exclusivamente expresado en las células Th17. La IL-6 por su parte, tiene un papel en la activación del factor de transcripción STAT3, el cual se une directamente y activa el promotor de *IL-17A*. Los factores de transcripción ROR $\gamma$ t y STAT3 son necesarios para la diferenciación de células Th17 (Figura 5). La IL-22, también producida por las células Th17, desempeña un papel importante en la amplificación de las células Th17. La IL-23 es indispensable para la posterior estabilización de células Th17 e IL-1 $\beta$  aumenta la diferenciación de las células Th17 (Cubides HH et al. 2015; Nalbandian A. et al. 2009).



**Figura 5. Diferenciación de células Th17 productoras de IL-17A.** Las células Th0 en contacto con IL-6 y TNF- $\beta$ . Un rasgo característico de estas células es la expresión del factor de transcripción específico ROR $\gamma$ t, así como de STAT3. Una vez diferenciadas en células Th17, estas secretarán las interleucinas IL-17A, IL-17F e IL-22, las cuales participan en autoinmunidad e inflamación.

## IL-17A y AR

Diversas citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, moléculas de señalización intracelular y factores de transcripción han sido implicadas en la patogénesis de la AR. La inflamación sinovial, o sinovitis, es el resultado de la infiltración de leucocitos en el compartimento sinovial. Como se mencionó previamente, este infiltrado celular incluye los granulocitos, monocitos/macrófagos, células NK, células B, y en especial células T CD4<sup>+</sup> y T CD8<sup>+</sup>, todo este microambiente proinflamatorio lleva a la producción de grandes cantidades de IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ , así como a la síntesis y liberación de MMP de matriz, y de mediadores solubles como el Interferón- $\gamma$  e IL-17 (Choy E et al. 2001). La AR ha sido considerada una EA (enfermedad autoinmune) dependiente de las células Th1 productoras de IFN- $\gamma$ , sin embargo, evidencias recientes indican un papel



importante de las células Th17 en el desarrollo de esta patología. Las citocinas expresadas por estas células (IL-17, GM-CSF, IL-22) han sido asociadas con inflamación sinovial, principalmente a través de su efecto sobre la activación de neutrófilos. (Gullick NJ et al. 2013).

Reportes previos han mostrado que la IL-17 (tanto mRNA como proteína) se encuentra aumentada en articulaciones de pacientes con AR (Pawlik A et al. 2016). El aumento en las células Th17 es inducido por CD (células dendríticas) derivadas de monocitos y células mieloides, ambas son encontradas en un alto porcentaje en el líquido sinovial de pacientes con AR. Se sabe que la IL-17 tiene efectos pleiotrópicos en muchos tipos de células ya que induce la migración de células inmunes innatas, aumenta la producción de citocinas, quimiocinas, MMP, y mejora la formación de centros germinales en modelos animales, todo lo cual contribuye al inicio de la inflamación de la AR. La IL-17 estimula también la diferenciación de los osteoclastos y promueve la degradación directa de los proteoglucanos del cartílago, lo que lleva a la reabsorción ósea. (Mellado M et al. 2015. Sánchez-Ramón et al. 2011).

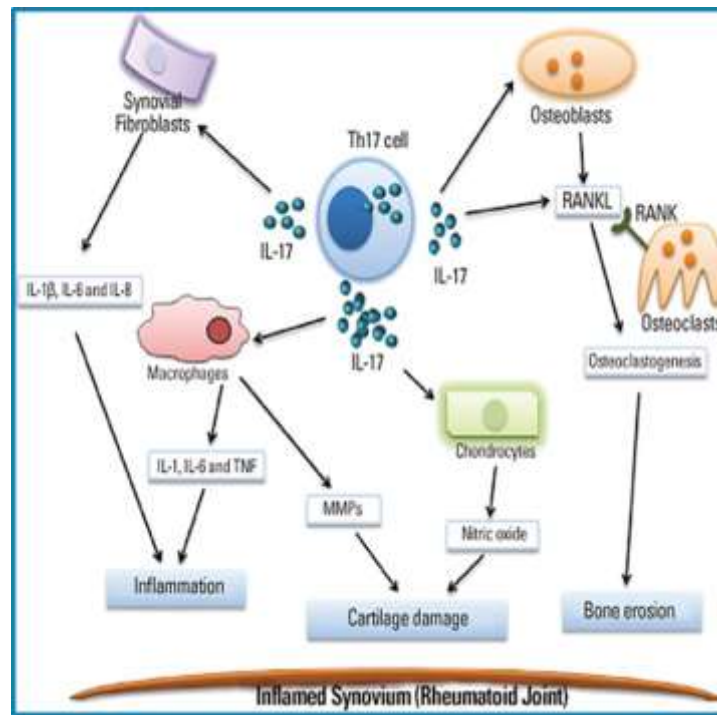
Se ha observado que el número de células Th17 esta aumentado en la circulación de pacientes con AR; estas células producen mayores cantidades de esta citocina después de la estimulación. Los altos niveles de la IL-17A y de su receptor en fluido sinovial de pacientes con AR, así como la señalización que se genera cuando la IL-17A se une a su receptor, permite que las células Th17 actúen como un puente entre las células inmunitarias innatas y las adaptativa. La IL-17A promueve la degradación de la articulación en modelos *ex vivo* (Shen L et al. 2015). En la AR, la migración de

leucocitos, la erosión de hueso y la angiogénesis son moduladas por la IL-17 y la IL-23.

Estudios en ratones *knock out* para la IL-17, han mostrado que esta citocina es crucial en el desarrollo de la AR debido principalmente a la inducción de autoanticuerpos y a la respuesta inmune humoral. En un modelo de artritis inducida por colágeno, se observó que el *knock out* para IL-17, o el tratamiento con antagonista de IL-17RA con un anticuerpo neutralizante antes del inicio de la enfermedad, atenúa la artritis y disminuye el daño en la articulación (Nakae S et al. 2003).

Estudios recientes han demostrado la acción de la IL-17 en varios tipos celulares, incluyendo los fibroblastos, donde aumenta la expresión de IL-6, quimiocinas, factores de crecimiento y MMP, mientras, en los macrófagos y CD, la IL-17A induce la síntesis y liberación de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-6 y proteína C reactiva, cuyo efecto final es la inflamación. En células endoteliales, bajo la influencia de la IL-17 hay un aumento en la liberación de IL-6 y MMP; en los condrocitos la IL-17 estimula la producción del mRNA de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) provocando una concentración elevada del óxido nítrico (NO) en condrocitos de cartílago osteoartítico, provocando daño a los tejidos, lo cual claramente contribuye a una reducción en la función articular al promover la degradación de la matriz por la liberación de fragmentos de colágeno y proteoglicanos tipo glicosaminoglicanos en el cartílago, liberando MMP de matriz e inhibiendo la síntesis de nuevos proteoglicanos y colágeno. (Vélez Marín et al. 2007).

En los osteoblastos la IL-17A estimula la expresión del ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL, del inglés; ligand *receptor activator of nuclear factor  $\kappa$  B*); la interacción RANK/RANKL activa e induce la osteoclastogénesis, responsable de la reabsorción ósea y daño a cartílago (Ver figura 6).



**Figura 6. Papel de la IL-17A en la fisiopatología de la AR.** La IL-17 influye en la activación de varios tipos celulares permitiendo el desarrollo de la AR. La IL-17 provoca inflamación, destrucción de cartílago y erosión del hueso. En fibroblastos y macrófagos sinoviales la IL-17 induce la producción de IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y MMPs. En monocitos la IL-17 contribuye a la inflamación, al aumentar la producción de citocinas proinflamatorias. La IL-17 activa la producción y función de MMP, además aumenta la expresión del RANKL en osteoblastos. IL: interleucina, Th17: células productoras de IL-17, TNF: Factor de Necrosis Tumoral, RANK: receptor activador del factor nuclear kappa B, RANKL: ligando de RANK, MMPs: metaloproteinasas de matriz. (Tomada de Mi Ra Cho 2013).

Por otro lado, el gen *IL-17A* exhibe polimorfismos funcionales que pueden alterar su expresión y por tanto influir en la predisposición a EA (enfermedades autoinmunes).

Algunos estudios han investigado el papel de los polimorfismos presentes en *IL-17A* y los niveles de IL-17 en la susceptibilidad a la AR. Un meta-análisis realizado por Lee et al., mostró que el SNP rs2275913 de *IL-17A* se asoció con AR en población caucásica, mientras que el SNP rs8193036 de este mismo gen no mostró ninguna asociación (Lee et al. 2017).

### **IL-17A y LES**

Como ya ha sido mencionado antes, el LES al igual que la AR, son EA de etiología desconocida, la cual puede afectar varios órganos y/o sistemas. Diversos trabajos indican que la IL-17 está involucrada en diferentes aspectos de la patogenia de esta enfermedad. Su potente capacidad proinflamatoria, junto con los efectos que ejerce en una variedad de células, sugiere que su producción no regulada tiene consecuencias generalizadas en animales y pacientes con LES (Nalbandian A. et al. 2009).

Algunos estudios han descrito mayor concentración de la IL-17A en pacientes con LES en comparación con sujetos control. Además, el número de células Th17 circulantes, y la concentración de la IL-17A determinada en el sobrenadante de células mononucleares cultivadas de pacientes con LES se encuentran aumentadas en pacientes con LES. La mayoría de los estudios han demostrado que el número de células Th17 o bien la concentración de IL-17A en suero, correlacionan con el índice de actividad del LES (Wong CK et al. 2000; Wong CK et al. 2008, Yang J et al. 2009). También se han observado niveles locales aumentados de la IL-17A en lesiones de piel y del sistema nervioso central de los pacientes con LES, así como con nefritis lúpica (NL) (Li et al. 2015, Araújo JA et al. 2016). Estos datos sugieren que la IL-17

puede participar en la activación de diversas vías del SI (sistema inmunológico), sin embargo, estos resultados han sido controversiales dado que algunos estudios reportan una correlación entre la IL-17A y la enfermedad, mientras que en otros no. Las razones de estas discrepancias puede incluir diferencias en el tamaño de la muestra, diferencias regionales o raciales, efecto de los medicamentos, así como la heterogeneidad de la enfermedad (Elewa EA et al. 2014).

En modelos animales, se ha demostrado que el bloqueo de la IL-17 disminuye las manifestaciones de lupus. De esta manera, la información obtenida en estos estudios sugiere que la IL-17 podría estar asociada no solo con la lesión tisular mediada por células T, sino también con la producción de autoanticuerpos. En estos mismos modelos murinos se ha indicado que las células B derivadas de LES aumentan la producción de anti-DNA cuando se cultivan en presencia de IL-17. Sin embargo, la importancia de este mecanismo patogénico en humano aún no está claro (Li et al. 2015).

Un sello distintivo de LES es la eliminación defectuosa de las células apoptóticas, las cuales producen necrosis secundaria y la liberación de grandes cantidades de anticuerpos anti-DNA de doble cadena nuclear (dsDNA, del inglés; *anti-double stranded DNA*) y *ribonucleo-proteínas* (RNP). Estos antígenos nucleares interaccionan con autoanticuerpos, los cuales dan como resultado la formación de complejos inmunes, resultando en la activación de CD plasmacitoides (pDC), y en la síntesis de interferón (INF). De esta manera, las pDC activadas migran a los tejidos linfoides periféricos y a los sitios de inflamación donde liberan grandes cantidades de IFN $\alpha$ . Los

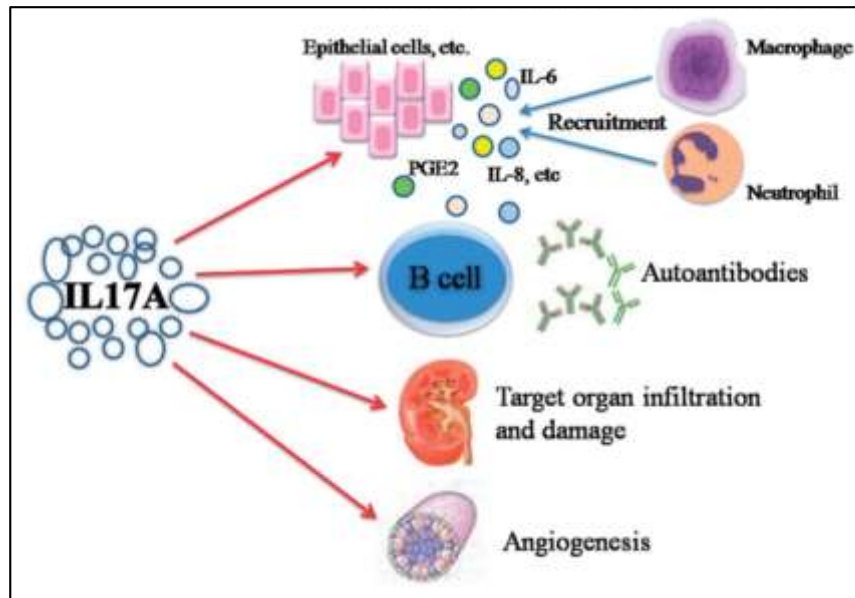
datos sugieren que las pDC también desempeñan un papel central en la promoción de la secreción de la IL-17 en el LES, ya que algunos estudios *in vitro* han demostrado que, además de la producción de IFN $\alpha$ , la activación de las pDC estimuladas por TLR7 llevan a la síntesis y liberación de las interleucinas IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-23, potentes citocinas inductoras de la diferenciación de células Th17. (Martin JC et al. 2014).

En cuanto a la NL (la manifestación más común y grave de el LES, y un factor de mal pronóstico en esta enfermedad), se ha observado que los autoanticuerpos, los complejos inmunes y células T que se infiltran en el riñón, inician el daño tisular. La expresión del nivel de IL-17A en pacientes con NL aumenta significativamente en comparación con los pacientes sin NL y controles sanos. Se ha observado también que el porcentaje de células Th17 aumenta y el de las células T reguladoras (Treg) disminuye en sangre periférica de pacientes con NL, sugiriendo que un desequilibrio de células Th17 y Treg puede contribuir al desarrollo de LES (Wang Y et al. 2009; Koga T et al. 2017).

Además de las actividades proinflamatorias de IL-17A, sus efectos en otro tipo de células pueden contribuir a la patogénesis del LES. Un aumento en la producción de IgG total, IgG anti-dsDNA e IL-6 en células mononucleares de sangre periférica (CMN, del inglés; *peripheral blood mononuclear cells*) de pacientes con NL ha sido observada cuando estas se cultivan con la IL-17, estos hallazgos sugieren que esta citocina puede participar en la activación de las células B de pacientes con LES (Dong et al. 2003; Nalbandian A et al. 2009). En estos mismo cultivos de células de pacientes con LES también se ha observado que la IL-17A promueve el proceso inflamatorio al inducir la

producción de las citocinas IL-8 y IL-6, IL-17, prostaglandina E2, así como del factor de crecimiento de colonias de granulocitos (GM-CSF, del inglés *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), e.g. Asimismo, se ha observado que la IL-17A amplifica la respuesta inmune aumentando la producción de autoanticuerpos. Las citocinas inducidas por la IL-17A, como la IL-21, pueden contribuir a una inmunidad anormal de las células B al promover la maduración, supervivencia y diferenciación de células B a células plasmáticas. Igualmente, cuando se combina con el factor activador de células B (BAFF, del inglés *B cell activating factor*), además, se ha observado la influencia de la IL-17A sobre el aumento en la viabilidad y actividad de células Th-17 dado que disminuye la apoptosis y aumenta la proliferación celular y síntesis de anticuerpos (Li et al. 2015). La IL-17A facilita la activación de células T y su infiltración en los tejidos al regular la expresión de la molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y MMP de matriz. La infiltración hacia el órgano blanco y la inflamación crónica son características patogénicas que finalmente dan como resultado daño al órgano (vasculitis, y nefritis) en la mayoría de los pacientes con LES. (Li et al. 2015; Qian W et al. 2012).

La IL-17A también puede promover la angiogénesis. Se ha detectado que los niveles de IL-17A correlacionan con el número de células endoteliales y actividad de la enfermedad en pacientes con LES activo que presentan vasculitis. La IL-17A posee la capacidad de activar células endoteliales y consecuentemente la formación de vasos sanguíneos. Se sabe que la permeabilidad vascular es un componente crítico en la inflamación y que la angiogénesis contribuye al desarrollo de la reacción inflamatoria (Figura 7).



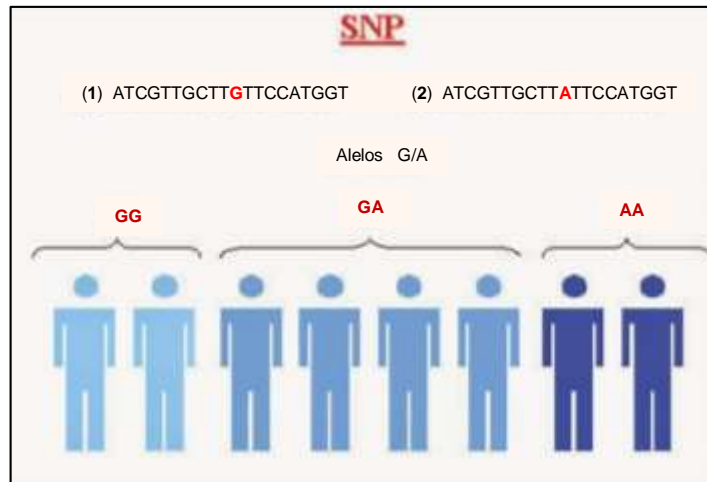
**Figura 7. Papel de IL-17 en la patogénesis del LES.** IL-17A amplifica la respuesta inmune al inducir la producción local de quimiocinas y citocinas, así como aumentar la producción de anticuerpos por parte de las células B, a través de eventos inflamatorios, daño al órgano blanco y promoción de angiogénesis en LES. Tomada de (Li et al. 2015).

Por otra parte, la disminución de células T reg reportadas en pacientes con LES, podría ser consecuencia de una diferenciación de células T sesgada, sin embargo, esta situación tendría que ser evaluada en futuras investigaciones.

### **Los SNPs en el genoma humano, su papel en *IL-17A*, y su relación con AR y LES**

Desde el punto de vista genético, el principal tipo de variante genética está representado por los SNPs, los cuales se presentan en aproximadamente 1 en 10000 pb, generalmente son bialélicos, y son las variantes más abundantes en las poblaciones humanas (Ver figura 8. [International HapMap Project. 2003]).





**Figura 8. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs).** Los SNPs son variaciones en la secuencia de DNA que afectan a una sola base (adenina (A), timina (T), citocina (C) o guanina (G) de una secuencia de un genoma. Como se observa, las secuencias (1) y (2) son exactamente iguales excepto por la base localizada en la posición 11, en la que hay un cambio de G (secuencia 1) por A (secuencia 2). Este cambio genera la existencia de 3 genotipos diferentes en la población.

Así, un SNP es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina; A, timina; T, citocina; C o guanina; G) de una secuencia de un genoma. Los SNP contribuyen de manera significativa a las diferencias entre poblaciones e individuos. Estos polimorfismos, en general, no son considerados como los verdaderos causantes de la enfermedad, sino más bien como marcadores de riesgo para desarrollarlas. Es importante mencionar que las variantes encontradas en regiones promotoras o no codificantes deben ser evaluadas con el fin de conocer si estas pueden afectar los niveles de expresión del mRNA al crear o destruir sitios de splicing, paro anticipado, generación de sitios aceptores de miRNAs, creación o destrucción de sitios de unión para diversos factores de transcripción, activadores, represores, etc., (Checa Caratachea 2007, Ramírez-Bello et al. 2013). Es transcendental señalar que, en varias ocasiones, los alelos de los SNP de forma individual no confieren

susceptibilidad para el desarrollo de enfermedades, pero si lo hacen en forma de haplotipos, los cuales son de gran utilidad, ya que proporcionan información acerca de la recombinación genética. Los haplotipos nos permiten localizar mutaciones que pueden ser causantes de susceptibilidad para alguna enfermedad mediante métodos de análisis de desequilibrio de ligamiento (LD, del inglés *linkage disequilibrium*). El LD puede entenderse como una asociación entre los alelos de los SNP con algún rasgo de interés. De esta manera, un alto LD, identifica alelos que cosegregan juntos a la vez que puede determinarse el efecto adicional o combinatorio de los alelos sobre la susceptibilidad de una enfermedad (Iniesta R et al. 2005).

Algunos estudios han demostrado el papel que tienen los SNP rs8193036 (-737T/C), el rs3819024 (-444A/G), el rs2275913 (-197G/A), y el rs8193037 (-121G/A) localizados en el promotor del gen *IL-17A* en el riesgo que confieren sobre diferentes enfermedades como enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (Zhang X et al. 2013); enfermedad de Grave's (Qi Y et al. 2016), falla cardiaca congestiva (Sandip C et al. 2016); enfermedad arterial coronaria (Su GB et al. 2016), enfermedad tiroidea (Yan N et al. 2012) y espondiloartritis (Gaston JS et al. 2018) entre otras.

Así, un estudio realizado en población coreana con EII mostró que los SNP -197G/A y -737C/T estuvieron asociados con esta patología. El SNP -197G/A del gen *IL-17* mostró una asociación bajo el modelo recesivo de  $p=0.036$  (OR 0.63), mientras el SNP -737C/T del mismo gen, mostró una asociación bajo el modelo dominante con una susceptibilidad: OR 1.50, con un valor de  $p=0.020$ . Además, los alelos de riesgo -737T and -444A se asociaron con altos niveles de expresión del mRNA de *IL-17A* (Kim S et

al. 2011). En otro estudio, el SNP rs3819025G/A aumentó el riesgo para AR, pero no así el rs4711998A/G y el SNP -121G/A (Shen L et al. 2015).

Otros reportes más en población china de la variante -197G/A mostraron una asociación con protección para púrpura de Henoch-Schönlein (OR=0.70;  $p=0.018$ ), un tipo de EA (enfermedad autoinmune) que genera una vasculitis sistémica de vasos pequeños. Además, en este mismo estudio se mostró que el alelo A del rs3819025 se asoció con un mayor riesgo de nefritis por púrpura de Henoch-Schönlein (OR=1.61;  $p=0.047$ ) (Xu H et al. 2016). Por otro lado, Nordang analizó el SNP -197G/A en pacientes noruegos con AR y encontró una asociación débil para esta enfermedad (OR=1.17;  $p=0.02$ , Nordang G. et al. 2009). Por su parte, Bogunia-Kubik y cols., reportaron la asociación de este mismo polimorfismo estar asociado con progresión de AR en población polaca (Bogunia-Kubik et al. 2014).

Ciertas controversias han sido también identificadas en el análisis de SNP de *IL17A* en AR, por ejemplo, el SNP -197G/A en población polaca reveló que no es un factor de susceptibilidad importante para esta EA (Pawlik A et al. 2016). Este mismo SNP fue valorado en población de Túnez con AR, donde tampoco influyó en la susceptibilidad (Dhaouadi et al. 2018).

Por otro lado, el único estudio llevado a cabo en pacientes con LES ha sido uno reportado en pacientes de Egipto, este reporte mostró que el SNP -197G/A no está asociado con el desarrollo de esta EA, sin embargo, el haplotipo GGA conformado por los alelos de los SNP rs763780A/G y rs2397084A/G y -197G/A mostró una asociación

con LES pediátrico (LESp) ( $p < 0.001$ ) (Hammad A. et al. 2016). Respecto a los estudios funcionales, solo el SNP -197G/A ha sido evaluado tanto en CMN como en ensayos de gen reportero (ensayos de actividad del reportero con luciferasa). Los datos mostraron que en CMN, los genotipos que llevan el alelo menos común y de susceptibilidad (GA y AA) correlacionaron con una mayor secreción de IL-17A al medio. Mientras tanto, en los ensayos de gen reportero se identificó que el alelo A lleva a una mayor expresión de luciferasa (Espinoza JL et al. 2011). Actualmente, no hay estudios funcionales que muestren el papel de las otras variantes de *IL-17A* (-121G/A, -444A/G, -737T/C), ni de la combinación de alelos (haplotipos) de todos los SNP o bien de su influencia sobre la expresión génica.

Dada la importancia que tiene la IL-17 (y de las variantes genéticas) en la inflamación y autoinmunidad, nosotros nos propusimos evaluar el papel de 4 SNP ubicados en el promotor de *IL-17A* en pacientes con AR y LES. Estas variantes son las siguientes: -121G/A, -197G/A, -444A/G, y -737C/T. En la tabla 3 se muestran las características de estos SNP de *IL-17A*. La frecuencia fue tomada de la base de datos 1000 genomas de una población con ancestría mexicana.

Número de referencia (rs)	Cambio de base	Posición	Frecuencia*
rs8193037	G / A	-121	G: 94 % A: 6%
rs2275913	G / A	-197	G: 78 % A: 22 %
rs3819024	A / G	-444	A: 76 % G: 24 %
rs8193036	T / C	-737	T: 76 % C: 24%

**Tabla 3.** Características de los SNP de *IL-17A* evaluados

\*Datos tomados del proyecto 1000 genomas basados en la genotipificación de una población con ancestría mexicana residente en los Angeles, California, USA.

### Selección de variantes genéticas

Los SNP analizados se seleccionaron según datos de estudios previamente publicados acerca de su relación con enfermedades autoinmunes, lo que sugería un papel funcional de estas variantes. La búsqueda fue mediante revisiones sistemáticas de la literatura en la base de datos Medline con los siguientes términos de búsqueda: (“Interleukin-17” o “IL-17”) AND (“polymorphisms” o “SNP”) en combinación con (“artritis reumatoide” o “lupus eritematoso sistémico” o “enfermedades autoinmunes”).

# 5

---

## JUSTIFICACIÓN

La etiología de LES y AR no se conoce completamente, sin embargo, es claro que el factor genético juega un papel fundamental en el riesgo para desarrollarlas. La identificación de los *loci* involucrados con ambas enfermedades no ha sido una tarea fácil. Actualmente, los principales polimorfismos localizados en los diferentes genes y que han sido evaluados en AR y LES -por su alta frecuencia y capacidad de generar susceptibilidad a desarrollar enfermedades- son los SNP. La presencia de estas variantes en la región promotora del gen de *IL-17*, aunque han sido evaluados en pacientes con AR, los resultados no son concluyentes dado el bajo tamaño de muestra, poder estadístico, el fondo genético de cada población. Respecto a LES, es prácticamente desconocido su papel sobre la susceptibilidad de esta EA. Dado que no se conoce completamente la influencia de los SNP -121G/A, -197A/G, -444A/G, -737C/T de *IL-17A* sobre la susceptibilidad para padecer AR o LES, el estudio de ellos será importante para conocer su papel sobre la susceptibilidad y/o gravedad en ambas EA, por lo que esto contribuirá a entender mejor los mecanismos genético-moleculares involucrados en estas dos enfermedades.

# 6

---

## HIPÓTESIS

Los SNP -121G/A, -197G/A, -444A/G y -737C/T de *IL-17A* están asociados con susceptibilidad para AR y LES (con nefritis lúpica) de forma individual o en haplotipos.

# 7

---

## OBJETIVOS

### OBJETIVO PRINCIPAL:

Conocer si los SNP -121G/A, -197G/A, -444A/G, -737C/T de *IL-17A* confieren susceptibilidad o gravedad para artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico en una muestra de pacientes mexicanos.

### OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Evaluar molecularmente los polimorfismos ubicados en el promotor del gen *IL-17A* (-121G/A, -197G/A, -444A/G y -734T/C) en una muestra de individuos Mexicanos sanos, con lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide.
2. Determinar si de manera independiente, los alelos de los SNP antes mencionados o en forma de haplotipos se asocian con susceptibilidad para desarrollar lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide.
3. Determinar si las variantes -121G/A, -197G/A, -444A/G y -734T/C de *IL-17A* confieren riesgo para desarrollar nefritis lúpica.



# 8

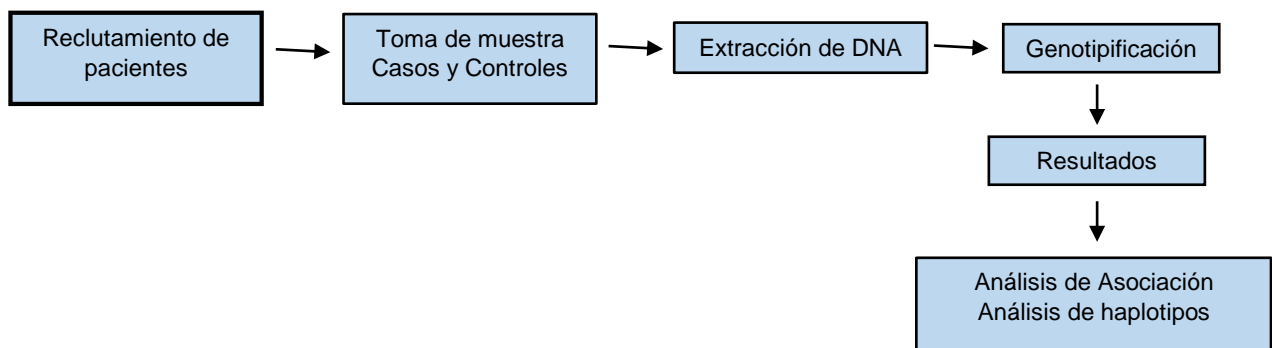
---

## MATERIAL Y MÉTODOS

### DISEÑO EXPERIMENTAL

Este es un estudio de casos y controles, observacional y transversal. ,

### ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



**Figura 9. Diagrama de flujo experimental.** Se reclutaron pacientes con AR, LES y controles sanos, de quienes se obtuvo una muestra sanguínea para extraer el DNA, posteriormente se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas, se buscó la existencia de asociación con dichas enfermedades.

### **Aspecto ético**

Este proyecto fue conducido de acuerdo a los lineamientos éticos de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética, de investigación y bioseguridad del Hospital Juárez de México (HJM) bajo el registro HJM 0446/18-I. Todos los participantes firmaron una carta consentimiento y les fue aplicado un cuestionario (Anexo) para conocer sus antecedentes heredofamiliares, inicio de la enfermedad, complicaciones y tratamiento en ambos padecimientos (sujetos con AR y con LES).

### **Población de estudio**

Un total de 1,367 participantes no relacionados biológicamente entre sí fueron incluidos, de los cuales, 501 fueron pacientes con AR, 367 fueron pacientes con LES y 499 fueron controles (individuos sin antecedentes de EA e inflamatorias). Todos los participantes de este estudio (casos y control) fueron del género femenino, mayores de edad y originarios del centro del país. Las muestras de sangre periférica de los pacientes con AR, LES y sujetos control, se obtuvieron de los Servicios de Reumatología del Hospital Juárez de México, Centro Medico “La Raza” (IMSS) y del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. Los individuos controles fueron obtenidos por invitación del Servicio de banco de sangre del HJM. Los pacientes con AR y LES fueron diagnosticados por médicos reumatólogos de los hospitales antes mencionados tomándose en cuenta los criterios del ACR-EULAR 2010 para AR y los criterios ACR 1997 para LES.

### **Criterios de inclusión de los casos con AR y LES**

- Tener diagnóstico de AR y/o LES tomando en cuenta los criterios de clasificación de los cuadros 1 y 2.
- Ser de origen mexicano al menos por tres generaciones.
- Ser del género femenino.
- Haber autorizado su participación en el proyecto mediante la firma de carta-consentimiento informado.

### **Criterios de exclusión de los casos**

- Pacientes que sean positivos para el Virus de Inmunodeficiencia Humana, así como para Virus de Hepatitis B y C.
- Haber recibido transfusión sanguínea en las últimas 4 semanas.

### **Criterios de inclusión de los controles**

- Ser de origen mexicano al menos por tres generaciones.
- No presentar obesidad, algún tipo de alergia ni enfermedades crónicas inflamatorias, tales como, urticaria crónica, hipertensión, aterosclerosis, asma, infarto agudo al miocardio, algún tipo de cáncer, diabetes tipo 2, etc.
- Ser del género femenino.
- Autorizar su participación mediante la firma de carta consentimiento-informado.

### **Criterios de exclusión de los controles**

- Se excluirán a todos los controles que sean positivos para el Virus de Inmunodeficiencia Humana, así como para el Virus de Hepatitis B y C.
- Haber recibido alguna transfusión sanguínea en las últimas 4 semanas.

### **Cálculo del tamaño de muestra**

El tamaño de muestra para LES y AR fue calculado por medio del programa QUANTO bajo el diseño caso-control. Este programa, toma en cuenta la prevalencia de la enfermedad, la frecuencia de los alelos de los SNP a analizar, el modelo genético (dominante, recesivo, codominante), Odds ratio de 2, el poder estadístico (mínimo del 80%) y un valor de  $p$ , igual o menor a 0.05.

### **Extracción de DNA por salting-out**

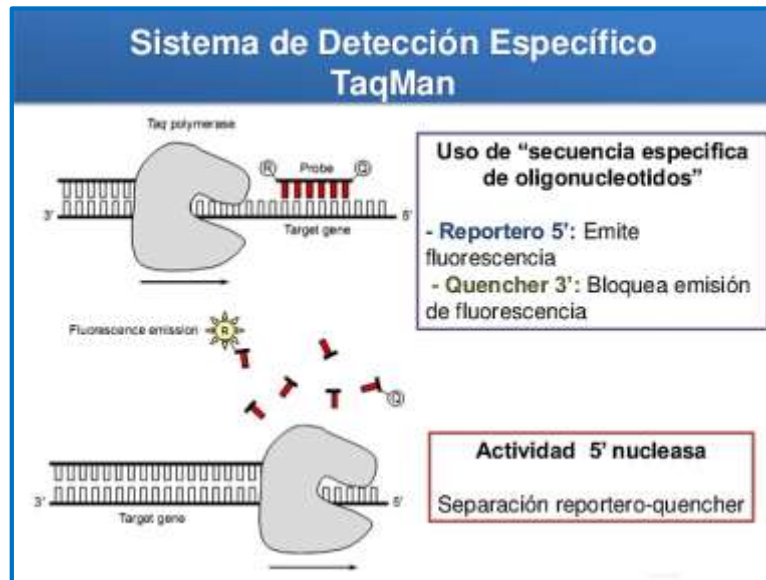
El DNA se extrajo a partir de leucocitos de sangre periférica de cada paciente con AR, LES así como de cada sujeto control mediante una técnica estándar, modificada por Buffone (Buffone G et al. 1985). La técnica de expulsión salina o salting-out consiste en el tratamiento con una solución de lisis de eritrocitos que contiene Sacarosa, Triton y Tris/HCl, la cual destruye los eritrocitos, tras varias centrifugaciones, estas células anucleadas son eliminadas. Posteriormente, los leucocitos son lisados e incubados durante 1hr/60°C en una solución que contiene EDTA y Tris/HCl, proteinasa K y dodecil-sulfato de sodio para liberar el DNA de las células. Después de la incubación, las proteínas son eliminadas del extracto mediante precipitación salina con solución de NaCl saturado. El extracto es centrifugado y el DNA contenido en el sobrenadante es precipitado con alcohol etílico absoluto y resuspendido en buffer U para su

cuantificación espectrofotométrica (260/280 nm) con el fin de conocer su concentración y grado de pureza (pureza óptima 1.8 – 2.0 densidades ópticas). Finalmente, se ajusta la concentración a 5ng/μl para realizar la genotipificación. Las muestras así fueron etiquetadas y conservadas a 4°C hasta su uso.

## **Genotipificación de SNP de *IL-17A***

### **Sondas Taqman**

Los genotipos fueron determinados por ensayos de discriminación alélica usando sondas TaqMan y un sistema de detección de PCR en tiempo real (Equipo CFX96, C1000 de Bio-Rad, Hércules, California, USA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las sondas TaqMan son secuencias de DNA de hidrólisis diseñadas para incrementar la especificidad de la PCR cuantitativa, la cual se basa en la actividad exonucleasa 5'→3' de la Taq polimerasa para escindir una sonda marcada ya hibridada a la secuencia diana. Así, cada reacción contará con la presencia de dos cebadores específicos de la secuencia para amplificar el sitio donde se encuentran los polimorfismos de interés, así como dos sondas que permiten el genotipado de los dos alelos del SNP. Cada sonda en su extremo 5' contine un fluoróforo ya sea VIC o FAM, que se excita a diferente longitud de onda, y al ser escindida permite la emisión de fluorescencia, que finalmente es detectada por el software de PCR en tiempo real y traducida en colores en un gráfico de discriminación alélica (Holland PM et al. 1991). La figura 10 muestra estos eventos.



**Figura 10.** Las sondas TaqMan están formadas por un fluoróforo VIC o FAM (reportero) y un desactivador de fluorescencia (Quencher). Cada sonda hibrida con la región de ADN de interés, la cual es amplificada por un par de oligonucleótidos específicos. A medida que la enzima Taq-polimerasa sintetiza la cadena en sentido 3'-5', su actividad exonucleasa 5'-3' escinde la sonda TaqMan hibridada al ADN. La escisión de la sonda separa el reportero del desactivador, permitiendo la emisión de fluorescencia. La fluorescencia detectada es directamente proporcional a la cantidad de fluoróforo liberado y, por lo tanto, a la cantidad de ADN de interés presente en el producto de PCR. (Tamay de D. et al. 2013).

Los cuatro SNP evaluados del gen *IL-17* fueron: rs8193037 (-121G/A), rs2275913 (-197G/A), rs3819024 (-444A/G), y rs8193036 (-737T/C), también identificados como C\_\_25598363\_10, C\_\_15879983\_10, C\_\_11545877\_10, y C\_\_1799585\_10 respectivamente (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las condiciones usadas para la amplificación fueron las siguientes: Pre-PCR (1 ciclo); 50°C/2 minutos y 95°C/ 8 minutos, seguido por 40 ciclos de PCR; desnaturalización a 95°C/15 segundos, un alineamiento y extensión a 60°C/1 minuto. Todas las muestras evaluadas fueron genotipificadas dos veces, la reproducibilidad fue del 100%.

## **Análisis estadístico**

Para evaluar la asociación de un polimorfismo con la enfermedad de interés se construyó una tabla de contingencia. En el contexto de variantes genéticas, las tablas de contingencia son una herramienta fundamental para conocer la influencia que tiene el SNP estudiado sobre la enfermedad de interés. El análisis mediante tablas de contingencia compara las exposiciones de los sujetos enfermos con las exposiciones de los controles, se contrastó la hipótesis de asociación mediante una prueba de  $X^2$  y se calculó la razón de momios (OR por sus siglas en inglés *odd ratio*) (cociente entre la probabilidad de enfermar y la probabilidad de no enfermar) de cada genotipo para cuantificar la magnitud de la asociación (González Ruiz 2017). Así, los análisis de asociación se realizaron por separado para cada uno de los SNPs, comparando las frecuencias alélicas y genotípicas entre casos y controles y usando la prueba de Chi-cuadrada ( $X^2$ ) con el software FINETTI (<http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>), bajo tres modelos de herencia (codominante, dominante y recesivo). El programa Epidat Versión 3.1 (<http://www.epidata.dk>) fue usado para calcular el OR e intervalo de confianza (IC 95%), y para identificar cualquier asociación entre cada genotipo y la enfermedad (LES y/o AR), una  $p < 0.05$  fue considerada como estadísticamente significativa, los valores de  $p$  se corrigieron por comparaciones múltiples utilizando el método de Bonferroni.

El programa Haploview 4.2 (Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard University, Cambridge, MA, USA, HapInstall.exe), fue usado para realizar estimaciones de desequilibrio de ligamiento (LD) entre polimorfismos, determinación

de frecuencias y construcción de bloques de haplotipos. El poder estadístico de este estudio se obtuvo con el programa QUANTO (V.1.2.4). [https://softadvice.informer.com/Quanto\\_Software](https://softadvice.informer.com/Quanto_Software)). Este programa toma en cuenta las siguientes variables: diseño de estudio: caso-control, tamaño de la muestra: 501 pacientes con AR, y 367 pacientes con LES, nivel de significancia:  $p=0.05$ , modelo de herencia: recesivo, frecuencia alélica correspondiente a cada uno de los alelos de menor frecuencia de los 4 SNP estudiados, prevalencia de LES y/o AR y un OR de 2. La predicción del efecto de cada uno de los SNP de *IL-17A* fue llevada a cabo mediante pruebas bioinformáticas con el software SNP Function Prediction (<http://snpinfo.niehs.nih.gov/snpfunc.htm>).



# 9

---

## RESULTADOS

### **Características de los participantes**

Se captaron 501 pacientes con AR, 367 pacientes con LES y 499 sujetos sin antecedentes de enfermedades inflamatorias y EA, estos últimos fueron utilizados como controles. Todos los participantes, tanto casos (AR y LES) como controles fueron mujeres. La tabla 4 muestra algunos rasgos demográficos de los 3 grupos estudiados. Para los pacientes con LES, el promedio de edad fue de  $38 \pm 12$  años, para los pacientes con AR fue de  $51 \pm 14$  años y para las personas control fue de  $52.7 \pm 7.9$  años. De los 367 pacientes con lupus, se tuvo acceso a 218 expedientes clínicos, se encontró que el 45 % de ellos (98 pacientes) presentaron NL (nefritis lúpica).

**Tabla 4. Distribución demográfica en pacientes con AR, LES e individuos sanos**

	Control n (%)	AR n (%)	LES n (%)
Total	499 (100)	501 (100)	367 (100)
Edad (sd)	52.7 ± 7.9	51 ± 14	38 ± 12
LN/no-LN	-	-	98 (45)/120 (55)

AR: artritis reumatoide . LES: Lupus eritematoso sistémico DS: Desviación estándar  
NL: Nefritis Lúpica

### Poder estadístico y Equilibrio de Hardy-Weinberg

El poder estadístico fue determinado para cada uno de los SNP evaluados. La tabla 5 muestra estos resultados.

La distribución genotípica para cada uno de los SNP de *IL-17A* tanto en casos como en controles estuvieron en equilibrio de Hardy–Weinberg ( $p > 0.05$ ).

Marcador	MAF	Posición	Poder Estadístico	
			AR	LES
rs8193037	A (6%)	-121	99.9 %	99.5 %
rs2275913	A (6%)	-197	99.7 %	98.5 %
rs3819024	G (6%)	-444	99.8 %	98.8 %
rs8193036	C (6%)	-737	99.8 %	98.8 %

**Tabla 5. Cálculo del poder estadístico para cada SNP evaluado**  
\*MAF: Alelo de menor frecuencia según el Proyecto 1000 genomas

### Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP -121G/A, -197G/A, -444A/G y -734T/C de *IL-17A* en pacientes con AR/LES y análisis de asociación

Las frecuencias genotípicas y alélicas de los 4 SNP de *IL-17A* evaluados en pacientes con AR y sujetos control se presentan en la tabla 5. Los datos muestran que tanto las

frecuencias genotípicas como las alélicas entre estos dos grupos fueron similares. Los genotipos heterocigotos; *GA* para el SNP -121 y *TC* para el SNP -737, se encontraron en una mayor frecuencia en pacientes con AR que en sujetos control (16.4% vs. 12.8% y 32.3% vs. 29.1%, respectivamente), por el contrario, para los genotipos *GA* del SNP -197 y *AG* del SNP -444, ocurren con mayor frecuencia en sujetos control que en pacientes con AR (27.9% vs. 23.8% y 26.7% vs. 24.4%, respectivamente). Sin embargo, a pesar de estas diferencias en la frecuencias no se detectó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y los pacientes con AR bajo los modelos de herencia codominante, dominante y recesivo, indicando que los SNP -121G/A, -197G/A, -444A/G y -737T/C de *IL-17A* no son factores de riesgo para AR (Tabla 6).

Resultados similares se obtuvieron en pacientes con LES y sujetos control, la tabla 6 muestra que respecto al SNP -121G/A, el genotipo *GG* se encuentra mayormente en sujetos control que en pacientes con LES (86.2% vs. 82.3%, respectivamente), mientras, el genotipo *GA* este se encuentra con mayor frecuencia en sujetos con LES que en sanos (16.9% vs. 12.8%, respectivamente), además el alelo *A* es también más frecuente en sujetos con LES que en controles (9.3% vs. 7.4%, respectivamente). Para el SNP -737T/C, los análisis exhibieron frecuencias muy parecidas, el genotipo *TT* mostró ser más frecuente en sujetos control que en pacientes con LES (65.3% vs. 63.2%, respectivamente), mientras, el genotipo *TC* y el alelo *C* (alelo de menor frecuencia) se encontraron con mayor frecuencia en sujetos con LES *versus* controles (30.2% vs. 29.1%, y 21.7% vs. 20.1%, respectivamente). Las frecuencias genotípicas y alélicas para los SNP -197G/A y -444A/G fueron similares entre casos y controles, y

aunque se observaron algunas frecuencias relativamente diferentes, estas no mostraron significancia estadística. Así, el genotipo GA del SNP -197 y el genotipo AG del SNP -444 mostraron ser más frecuentes en el grupo control que en el grupo de sujetos con LES (27.9% vs. 22.9%, y 26.7% vs. 23.5%, respectivamente). Al igual que para AR, en LES no se encontró asociación de ninguno de los 4 SNP (-121G/A, -197G/A, -444A/G y -737T/C) bajo los modelos codominante, dominante y recesivo, a excepción del SNP -121G/A, el cual mostró una asociación con la enfermedad (OR: 2.32,  $p=0.043$ ), sin embargo, esta se perdió después de hacer corrección por la prueba de Bonferroni (Tabla 7).

**Tabla 6. Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP -121 G/A, -197 G/A, -444 A/G y de -737 T/C de IL-17A y análisis de asociación en pacientes con AR en individuos sanos.**

SNP	Modelo	Genotipo o alelo	AR n (%)	Control n (%)	OR 95% IC	p
-121 rs8193037	Codominante	GG	415 (82.8)	430 (86.2)	1.32 (0.93 - 1.89)	0.11
		GA	82 (16.4)	64 (12.8)		
		AA	4 (0.8)	5 (1)		
		G	912 (91)	924 (92.6)		
		A	90 (9)	74 (7.4)		
	Dominante	GG	415 (82.8)	430 (86.2)	0.96 (0.67 - 1.37)	0.83
		GA+AA	86 (17.2)	69 (13.8)		
	Recesivo	GG+GA	497 (99.2)	494 (99)	0.79 (0.21 - 2.97)	0.73
		AA	4 (0.8)	5 (1)		
-197 rs2275913	Codominante	GG	370 (73.8)	351 (70.3)	0.81 (0.61 - 1.08)	0.15
		GA	119 (23.8)	139 (27.9)		
		AA	12 (2.4)	9 (1.8)		
		G	859 (85.7)	841 (84.3)		
		A	143 (14.3)	157 (15.7)		
	Dominante	GG	370 (73.8)	351 (70.3)	0.83 (0.63 - 1.10)	0.21
		GA+AA	131 (26.2)	148 (29.7)		
	Recesivo	GG+GA	489 (97.6)	490 (98.2)	1.33 (0.55 - 3.19)	0.51
		AA	12 (2.4)	9 (1.8)		
-444 rs3819024	Codominante	AA	363 (72.4)	357 (71.5)	0.81 (0.61 - 1.08)	0.15
		AG	122 (24.4)	133 (26.7)		
		GG	16 (3.2)	9 (1.8)		
		A	848 (84.6)	847 (84.9)		
		G	154 (15.4)	151 (15.1)		
	Dominante	AA	363 (72.4)	357 (71.5)	0.95 (0.72 - 1.25)	0.74
		AG+GG	138 (27.6)	142 (28.5)		
	Recesivo	AA+GA	485 (96.8)	490 (98.2)	0.55 (0.24 - 1.27)	0.15
		GG	16 (3.2)	9 (1.8)		
-737 rs8193036	Codominante	TT	323 (64.5)	326 (65.3)	1.12 (0.85 - 1.48)	0.38
		TC	162 (32.3)	145 (29.1)		
		CC	16 (3.2)	28 (5.6)		
		T	808 (80.6)	797 (79.9)		
		C	194 (19.4)	201 (20.1)		
	Dominante	TT	323 (64.5)	326 (65.3)	1.03 (0.80 - 1.34)	0.77
		TC+CC	178 (35.5)	173 (34.7)		
	Recesivo	TT+TC	485 (96.8)	471 (94.4)	0.55 (0.29 - 1.04)	0.06
		CC	16 (3.2)	28 (5.6)		

OR: odds ratio. CI: intervalo de confianza

**Tabla 7. Frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP -121 G/A, -197 G/A, -444 A/G y de -737 T/C de IL-17A y análisis de asociación en pacientes con LES en individuos sanos.**

SNP	Modelo	Genotipo o alelo	LES n (%)	Control n (%)	OR 95% IC	p
-121 rs8193037	Codominante	GG	302 (82.3)	430 (86.2)	1.37 (0.94 – 2.01)	0.09
		GA	62 (16.9)	64 (12.8)		
		AA	3 (0.8)	5 (1)		
		G	666 (90.7)	924 (92.6)		
		A	68 (9.3)	74 (7.4)		
	Dominante	GG	302 (82.8)	430 (86.2)	1.34 (0.92 - 1.94)	0.11
		GA+AA	65 (17.7)	69 (13.8)		
	Recesivo	GG+GA	364 (99.2)	494 (99)	0.81 (0.19 – 3.42)	0.77
		AA	3 (0.8)	5 (1)		
-197 rs2275913	Codominante	GG	268 (73)	351 (70.3)	0.79 (0.57 - 1.08)	0.14
		GA	84 (22.9)	139 (27.9)		
		AA	15 (4.1)	9 (1.8)		
		G	620 (84)	841 (84.3)		
		A	114 (15.5)	157 (15.7)		
	Dominante	GG	268 (73)	351 (70.3)	0.87 (0.64 - 1.18)	0.38
		GA+AA	99 (27)	148 (29.7)		
	Recesivo	GG+GA	352 (95.9)	490 (98.2)	<b>2.32 (1.0 – 5.36)</b>	<b>0.043* ‡</b>
		AA	15 (4.1)	9 (1.8)		
-444 rs3819024	Codominante	AA	268 (73)	357 (71.5)	0.86 (0.62 - 1.17)	0.35
		AG	86 (23.5)	133 (26.7)		
		GG	13 (3.5)	9 (1.8)		
		A	622 (84.7)	847 (84.9)		
		G	112 (15.3)	151 (15.1)		
	Dominante	AA	268 (73)	357 (71.5)	0.92 (0.68 - 1.25)	0.63
		AG+GG	99 (27)	142 (28.5)		
	Recesivo	AA+GA	354 (96.5)	490 (98.2)	1.99 (0.84 – 4.72)	0.10
		GG	13 (3.5)	9 (1.8)		
-737 rs8193036	Codominante	TT	232 (63.2)	326 (65.3)	1.07 (0.79 - 1.45)	0.63
		TC	111 (30.2)	145 (29.1)		
		CC	24 (6.6)	28 (5.6)		
		T	575 (78.3)	797 (79.9)		
		C	159 (21.7)	201 (20.1)		
	Dominante	TT	232 (63.2)	326 (65.3)	1.1 (0.82 - 1.45)	0.52
		TC+CC	135 (36.8)	173 (34.7)		
	Recesivo	TT+TC	343 (93.4)	471 (94.4)	1.17 (0.67 – 2.06)	0.56
		CC	24 (6.6)	28 (5.6)		

OR: odds ratio. CI: intervalo de confianza.

\*p<0.05, estadísticamente significativo. ‡p= No significante

### **Análisis de haplotipos en AR**

En casos con AR y controles identificamos 8 haplotipos provenientes de la combinación de los 4 SNP de *IL-17A*, de los cuales, el formado por los alelos TAGG fue el de mayor frecuencia. Este haplotipo estuvo conformado por los alelos comunes de los 4 SNP de *IL-17A*. La frecuencia de este haplotipo en pacientes con AR y en controles fue idéntica (67.6 % para cada grupo). El resto de haplotipos también se presentaron en frecuencias similares. De esta manera, ninguno de ellos mostró asociación con AR. La frecuencia de cada haplotipo, el valor de *p* y valor de *pc* (valor corregido con 100,000 permutaciones) se muestran en la tabla 8.

**Tabla 8. Frecuencia de haplotipos y análisis de asociación en AR y sujetos control. El orden de los alelos fue -737T/C, -444A/G, -197G/A y -121G/A**

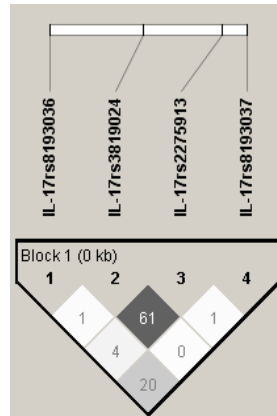
Haplotipo	AR (%)	Controles (%)	OR	95% IC	<i>p</i>	<i>pc</i>
TAGG	67.6	67.6	1	0.83 – 1.21	0.98	1
TGAG	7.8	8.8	0.87	0.64 – 1.20	0.41	0.98
CAGG	5.8	7.1	0.8	0.56 – 1.15	0.23	0.87
CAGA	6.8	5.9	1.16	0.81 – 1.66	0.42	0.98
CGAG	3.7	4.2	0.87	0.56 – 1.37	0.56	0.99
TGGG	2.6	1.5	1.75	0.92 – 3.32	0.08	0.48
CAAG	1.9	2.2	0.86	0.46 – 1.60	0.63	0.99
TAGA	1.9	1.5	1.27	0.64 – 2.51	0.49	0.99

OR: odds ratio. CI: intervalo de confianza. *p*: valor de *p*  
*pc*: valor de *p* corregido por 100,000 permutaciones

### **Análisis de DL de los alelos de los SNP -737T/C, -444A/G, -197G/A y -121G/A de *IL-17A* en pacientes con AR y controles**

El análisis de LD entre los alelos de los 4 SNP de *IL-17A* en pacientes con AR mostró valores menores a  $r^2 < 0.8$ , lo que significa que aunque todos estos polimorfismos se

encuentran muy cercanos (todos están localizados en el promotor de *IL-17A*) no cosegregan juntos, sino que presentan una segregación independiente. La figura 11 muestra estos resultados



**Figura 11. Grafica de LD de los 4 SNP del gen *IL17A* en casos con AR y controles.** Los números representan el valor de LD. Ningún SNP evaluado en *IL-17A* está en LD, por lo que los alelos cosegregan independiente.

### Análisis de haplotipos en LES

Similar a los datos encontrados en AR, en LES también se identificaron 8 haplotipos, de los cuales el más común es representado por *TAGG* (este haplotipo contiene los alelos comunes). Nosotros identificamos el haplotipo *TAGA* asociado con susceptibilidad para desarrollar LES (OR =2.43,  $p= 0.004$ ), su frecuencia fue significativamente más alta en el grupo con LES que en el grupo control (3.8% vs. 1.6%, respectivamente), sugiriendo que los individuos portadores de este haplotipo tienen mayor riesgo de padecer LES. El haplotipo *TAGA* está formado por 3 alelos comunes de los siguientes SNP: -737 *T/C*, -444 *A/G*, -197 *G/A* y por el alelo no común o de menor frecuencia del SNP -121 *G/A*. La asociación incluso se conservó después de realizar una corrección con 100,000 permutaciones ( $p_c = 0.039$ ) (Tabla 9). Es



importante hacer notar que aunque ningún SNP de *IL-17A* de manera individual mostró asociación con LES, la combinación de ellos, específicamente, del haplotipo *TAGA*, confirió susceptibilidad para esta enfermedad. Los haplotipos restantes no estuvieron asociados con LES (Tabla 8).

**Tabla 9. Frecuencia de haplotipos y análisis de asociación en LES y sujetos control. El orden de los alelos fue -737T/C, -444A/G, -197G/A y -121G/A**

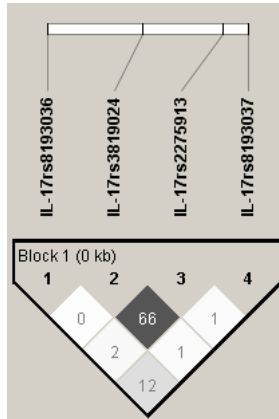
Haplotipo	LES (%)	Controles (%)	OR	95% CI	<i>p</i>	<i>pc</i>
TAGG	62.6	67.0	0.82	0.67 – 1.0	0.05	0.31
TGAG	9.2	9.1	1.02	0.73 – 1.41	0.92	1
CAGG	10.2	7.6	1.38	0.99 – 1.93	0.058	0.36
CAGA	5.6	5.8	0.96	0.64 – 1.44	0.84	1
CGAG	3.7	4.0	0.91	0.56 – 1.50	0.73	1
<b>TAGA</b>	<b>3.8</b>	<b>1.6</b>	<b>2.43</b>	<b>1.31 – 4.53</b>	<b>0.004*</b>	<b>0.039*</b>
CAAG	1.6	2.2	0.74	0.36 – 1.15	0.40	0.98
TGGG	1.8	1.5	1.18	0.56 – 2.50	0.66	0.99

OR: odds ratio. CI: intervalo de confianza. \**p*: < 0.05 estadísticamente significativo

*pc*: valor de *p* corregido por 100,000 permutaciones

### **Análisis de LD en pacientes con LES y controles**

Por otro lado, los alelos de los 4 SNP de *IL-17A* en pacientes con LES no mostraron estar en LD (valor de  $r^2 < 0.66$ ), indicando nuevamente que aunque estos SNP se encuentran muy cercanos entre sí, no cosegregan juntos. La figura 12 muestra estos resultados.



**Figura 12. Grafica de LD de los 4 SNP del gen *IL17A* para LES.** Los números representan el valor de LD. Ningún SNP evaluado en *IL-17A* está en LD, por lo que los alelos cosegregan independiente.

# 10

---

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La IL-17, una citocina producida por las células Th17, así como por otras células del SI (sistema inmunológico) que juega un papel fundamental en la patogénesis del LES y la AR (Tabarkiewicz et al. 2015). En estudios previos se ha mostrado que los pacientes con AR y LES tienen altos niveles de células Th17 y concentraciones elevadas de IL-17 séricas (Al-Saadany et al. 2016; Pavlovic et al. 2014; Niu et al. 2012; Chen et al. 2012; Liu et al. 2014; Wong et al. 2000; Tanasescu et al. 2010; Chen et al. 2010; Crispin et al. 2008). Estudios adicionales han mostrado una correlación entre niveles altos de la IL-17 sérica y actividad de AR y LES, (Dhaouadi et al. 2018; Li et al. 2015; Abou et al. 2012; Dolff et al. 2010; Chen et al. 2012; Leipe et al. 2010). A nivel de variantes genéticas tipo SNP, pocos estudios han reportado el papel de estos polimorfismos localizados en el promotor de *IL-17A* en pacientes con AR (Pawlik et al. 2015; Carvalho et al. 2016; Shen et al. 2015; Bogunia-Kubik et al. 2015; Nordang et al. 2009; Dhaouadi et al. 2018; Louahchi et al. 2016). Sin embargo, estos estudios no han

sido concluyentes debido al tamaño y poder estadístico bajo y la ancestría de los casos y controles. En relación al LES, hasta ahora solo un estudio ha evaluado el papel de la variante -197G/A de *IL-17A*, sin embargo, este reporte fue realizado en niños, además fue reportado en población egipcia, por lo que tampoco hay resultados concluyentes de esta variante y su asociación con esta enfermedad. Debido a esto, el objetivo de este trabajo fue valorar si alguno de los 4 SNP de *IL-17A* contribuyen en la susceptibilidad para AR o LES en una muestra de pacientes Mexicanos provenientes del Centro del país. Es importante hacer notar que este trabajo fue llevado a cabo solo en mujeres, dado que es bien conocido desde el punto de vista epidemiológico y con fundamento en la biología, que las EA se presentan en una mayor frecuencia en mujeres, con una proporción de hasta 9:1, comparado con los varones (Ortona et al. 2016; Ngo et al. 2014). Respecto a esto se ha reportado que las hormonas esteroides sexuales tienen efectos profundos en el SI y en las EA (Hughes et al. 2014). La AR y el LES son menos frecuentes en los hombres, los datos sugieren que la testosterona, el principal andrógeno en varones puede proteger contra las EA aunque los mecanismos por lo que se lleva a cabo aún permanecen desconocidos (Tedeschi et al. 2013; Wilhelmson et al. 2018). En modelos murinos existen evidencias de la influencia de los estrógenos sobre las células del SI, mientras que en humanos se ha visto que los linfocitos de pacientes con LES presentan mayor producción de anticuerpos anti-DNA al ser tratados con estrógenos exógenos, en tanto que el uso de testosterona reduce su producción, sugiriendo la participación de las hormonas femeninas en el desarrollo de estas patologías (Jadue N et al. 2012). De manera importante, varios estudios han mostrado que ciertas variantes genéticas, tales como la C1858T (R620W; cambio del aminoácido arginina por triptófano en la posición 620

de la proteína) del gen *PTPN22*, el cual codifica para la proteína Lyp y tiene como función inhibir la activación del TCR (receptor de células T), se encuentra únicamente en mujeres, de esta manera, la presencia del alelo *T* se afecta la activación de las células T y B, por lo que solo causa susceptibilidad para AR o EG (Rincón J et al. 2016; López-Cano et al. 2017). Otro ejemplo lo representa el gen de *TNF- $\alpha$* , algunas variantes tipo SNP localizadas en su promotor y que causan susceptibilidad para LES solo se encuentran presentes en las mujeres y no en los varones (Ramírez-Bello et al. 2018).

Respecto a nuestros datos identificados en AR, estos indican que ninguno de los SNP de *IL-17A* está asociado con susceptibilidad para esta enfermedad bajo ningún modelo genético (codominante, dominante o recesivo), sin embargo, en algunos otros trabajos si se ha reportado la existencia de asociación con esta patología, aunque los resultados han sido controversiales ya que los hallazgos no han podido ser replicados en las diferentes poblaciones estudiadas. Específicamente, el SNP -197G/A ha sido el más estudiado en distintas poblaciones incluyendo la de Túnez, Algeria, Polonia, Brasil, y Turquía, donde no se reportó ninguna asociación con la enfermedad (Dhaouadi T et al. 2018; Marwa O et al. 2017; Louahchi S et al. 2017; Pawlik A et al. 2016; Carvalho C et al. 2016; Erkol E et al. 2015). No obstante, en un estudio realizado en población noruega fue reportado que este mismo SNP está asociado con susceptibilidad para AR ( $p=0.002$ ) (Nordang et al. 2009).

Respecto de los otros SNP, el -444A/G y -737T/C han sido evaluados solo en población china y noruega, en la primera población el SNP -444G mostro una débil asociación con protección para AR bajo el modelo recesivo ( $p=0.048$ , OR 0.77), mientras que el alelo -737C estuvo asociado con susceptibilidad ( $p=0.01$ , OR 1.25), sin embargo, ninguno valor de  $p$  fue corregido (Shen et al. 2015). Mientras, en la población noruega, ninguno de los dos SNP (-444A/G y -737T/C) fueron un factor de riesgo para AR (Nordang et al. 200). Un estudio recientemente publicado en nuestra población por García de la Peña y cols., identificaron una asociación del SNP -197G/A de *IL-17A* con susceptibilidad para AR en pacientes mexicanos (García de la Peña et al. 2017). Sin embargo, en este trabajo nosotros no identificamos ninguna asociación entre esta variante y susceptibilidad para AR, sugiriendo que este polimorfismo no es un factor de riesgo para esta EA en nuestra población. Nuestros resultados difieren del estudio realizado por Garcia de la Peña y cols., en 3 puntos principales:

1. La frecuencia del alelo -197A (alelo de menor frecuencia). Nosotros encontramos un porcentaje de 14.3% para los casos con AR y de 15.7% para los controles, mientras que García de la Peña y cols., identificaron una frecuencia del 15% en los pacientes con AR y del 3% en los sujetos control. En 2015, el grupo de Vargas-Alarcón y cols., identificaron una frecuencia similar en sus controles (los cuales comparten varias características con los nuestros) a la que nosotros encontramos en nuestra misma población para el alelo menos común del SNP -197G/A, pues reportaron una frecuencia del 19% en 667 individuos de origen mexicano, sin embargo, la frecuencia reportada por García de la Peña y cols (Garcia de la Peña et al. 2017), es muy diferente a la

identificada en nuestro estudio y al reportado previamente por Vargas-Alarcón y cols. (Vargas-Alarcón et al. 2015).

2. El tamaño de la muestra utilizada por García de la Peña y cols., fue de 76 pacientes con AR y 94 controles, mientras que nosotros evaluamos 501 pacientes con AR y 499 sujetos sanos. Con nuestro tamaño de muestra obtuvimos un poder estadístico del 97.7% en nuestro estudio, por lo que nuestro reporte es muy robusto desde el punto de vista estadístico.
3. La metodología implementada. Nosotros llevamos a cabo este trabajo mediante el ensayo de genotipificación con sondas TaqMan, la discriminación alélica fue realizada por duplicado obteniéndose el 100% de reproducibilidad, por el contrario, en el estudio de García de la Peña la metodología utilizada fue PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism*) y análisis de secuenciación, que consistió en una amplificación del fragmento de DNA de interés, seguido por una digestión con enzimas de restricción.

Por otro lado, los resultados obtenidos de los SNP -121G/A, -197G/A, -444A/G, y -737T/C para los casos con LES en nuestro estudio, indican que tampoco son factores de riesgo para esta enfermedad, y aunque el alelo -197A confirió riesgo para LES bajo el modelo recesivo (OR 2.32,  $p=0.043$ ), cuando se corrigió con la prueba de Bonferroni, no se observó ninguna asociación con esta variante. Nosotros también evaluamos estas mismas variantes con NL (nefritis lúpica), nuestros datos indicaron que estas

variantes no están asociadas con este rasgo de gravedad en pacientes con LES. Así, nuestros datos concuerdan con lo reportado por Hammad y cols., quienes no identificaron ninguna asociación del SNP -197G/A con susceptibilidad para LES juvenil o con LN (Hammad et al. 2016). Sin embargo, debemos tener precaución dado el tamaño de la muestra evaluada con datos de NL y no NL.

El análisis de combinaciones alélicas nos permitió identificar al haplotipo TAGA asociado con susceptibilidad para LES (OR 2.43,  $p=0.004$ ) - incluso después de la corrección por 100,000 permutaciones (OR 2.43,  $p=0.039$ ). Este haplotipo está formado por los 3 alelos comunes de los SNP -737T/C, -444A/G, -197G/A y el alelo no común del polimorfismo -121G/A. La asociación de este haplotipo con susceptibilidad para LES, muestra que la presencia individual de cada uno de los 4 SNP de *IL-17A* no son suficientes para conferir susceptibilidad para LES, sin embargo, la combinación alélica de los 4 SNP evaluados en este estudio e identificada en el haplotipo TAGA, indica que la combinación de alelos es importante en la susceptibilidad para LES, pero no para LN.

Respecto al efecto funcional de los alelos de los SNP de *IL-17A* hasta el momento es prácticamente desconocido, y solo un estudio ha mostrado el efecto del alelo menos común del SNP -197G/A sobre la expresión de este gen. Los estudios *in vitro* llevados a cabo por Espinoza y cols., mostraron que las CMN (células mononucleares) estimuladas con fitohemaglutinina de individuos sanos, las cuales llevan el alelo -197A, produjeron significativamente mayor cantidad de IL-17 que aquellos sujetos sin el alelo -197A. De esta manera, en su estudio identificó que los genotipos -197G/A y -197A/A



correlacionaron con altos niveles de IL-17A sérica. Además, el ensayo de gen reportero mostró que el alelo -197A indujo una actividad más alta del gen de la luciferasa que el alelo -197G, quedando de manifiesto la potencial relevancia funcional del SNP -197G/A. Es importante mencionar que aunque esta variante ha sido la principalmente evaluada en AR o en otras EA, en nuestro estudio (así como en otros), no se observó ninguna asociación con de esta variante con AR ni LES.

Por otro lado, se ha sugerido que alguno de los dos alelos del SNP -121G/A puede afectar en la metilación del DNA, sin embargo, hasta hoy no hay estudios funcionales que lo demuestren (Kim et al. 2011). En este trabajo nosotros mostramos que el alelo -121A, cuando está en combinación con los tres alelos de mayor frecuencia para los SNPs -737**T**, -444**A** y -197**G**, confiere riesgo para LES (aunque no a nivel de SNP individual). Cabe mencionar que el estudio de Vargas-Alarcón y cols., también identificó el haplotipo *TAGA* asociado con enfermedad arterial coronaria (CAD), este mismo haplotipo mostró asociación con LES en nuestro estudio. Otra similitud de nuestro trabajo con el de Vargas-Alarcón y cols., es que tampoco encontraron una asociación de ningún SNP (ellos evaluaron los mismo SNP de *IL-17A* que nosotros) de *IL-17A* de manera individual con CAD, la asociación reportada solo se observó con el haplotipo *TAGA*. (Vargas-Alarcón et al. 2015). Así, nuestros resultados demuestran que la presencia del haplotipo *TAGA* confiere una mayor susceptibilidad para desarrollar LES, lo que sugiere que esta combinación podría contribuir potencialmente al desarrollo de esta la enfermedad. Es importante mencionar que no obstante, se requieren de investigaciones adicionales para definir la importancia de este haplotipo

(así como del efecto funcional de la combinación de alelos sobre la expresión génica) y su asociación con LES en otras poblaciones.

Algunas de las limitaciones de nuestro estudio son las siguientes:

- a) Marcadores informativos de ancestría (AIM, del inglés *ancestry-informative markers*). Dado que no se incluyeron AIM, esto podría introducir sesgos a nuestros datos, debido a la mezcla de grupos étnicos presentes en la ciudad de México, los cuales tienen una proporción de aproximadamente 65, 30 y 5% para la ancestría amerindia, europea y africana, respectivamente (Martínez-Marignac et al. 2007). Sin embargo, la distribución de genotipos en nuestros casos y controles mostraron estar en HWE, por lo que nuestros datos son confiables.
  
- b) Ausencia de análisis de datos clínicos y serológicos. Debido a que nosotros no pudimos reportar la presencia de diversos rasgos clínicos para AR o LES (excepto NL), nosotros no podemos descartar si los 4 SNP de *IL-17A* están asociados con rasgos clínicos de AR o LES. Adicionalmente, dado que nosotros tampoco pudimos obtener datos de anticuerpos anti-FR, ACPA, anti-DNA<sub>dc</sub>, ect., no podemos concluir si estas variantes de *IL-17A* están asociados con estos rasgos.

## CONCLUSIONES

- Las variantes -737T/C, -444A/G, -197G/A, y -121G/A de *IL-17A* están en equilibrio de Hardy-Weinberg tanto en casos como en controles.
- Los SNP -737T/C, -444A/G, -197G/A, y -121G/A de *IL-17A* no son factores de riesgo para AR, para LES ni para NL.
- El haplotipo *TAGA* se asocia con susceptibilidad para LES, pero no para AR o NL.
- Este es el primer estudio a nivel mundial que reporta una asociación del haplotipo *TAGA* de *IL-17A* con susceptibilidad a LES.

# 12

---

## PERSPECTIVAS

Debido a la influencia que tiene el SNP -121A del haplotipo *TAGA* y a su asociación con LES, es necesario llevar a cabo estudios funcionales que indiquen la participación que tiene este alelo sobre la expresión de *IL-17A*.

## BIBLIOGRAFIA

Abou Ghanima A, Elolemy G, Ganeb S, et al. Role of T helper 17 cells in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Egypt J Immunol.* 2012; 19(2):25-33.

Alarcón-Riquelme ME, Ziegler JT, Molineros J, Howard TD et al. Genome-Wide Association Study in an Amerindian Ancestry Population Reveals Novel Systemic Lupus Erythematosus Risk Loci and the Role of European Admixture. *Arthritis Rheumatol.* 2016. 68(4):932-43.

Alarcón Segovia D. ¿Qué es el Lupus eritematoso? *Boletín epidemiológico. Secretaría de Salud.* 2013; 30(30):1-4.

Al-Saadany HM, Hussein MS, Gaber RA, et al. Th-17 cells and serum IL-17 in rheumatoid arthritis patients: Correlation with disease activity and severity. *Egypt Rheumatol* 2016; 38:1–7.

Araújo J, Mesquita D Jr, de Melo Cruvinel W, Salmazi KI, et al. Th17 cells and CD4(+) multifunctional T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol Engl Ed.* 2016; 56(1): 28-36.

Barton A, Worthington J. Genetic susceptibility to rheumatoid arthritis: an emerging picture. *Arthritis Rheum.* 2009. 61(10):1441-6.

Beltrán Ramírez O, Mendoza Rincón JF, Barbosa Cobos RE, Alemán Ávila I, Ramírez Bello. STAT4 confers risk for rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in Mexican patients. *Immunol Lett.* 2016; 175:40-3.

Beutler B. Innate immunity: an overview. *Mol. Immunol.* 2004. 40: 845-859.

Bogunia-Kubik K, Swierkot J, Malak A, et al. IL-17A, IL-17F and IL-23R gene polymorphisms in polish patients with rheumatoid arthritis. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 2014; 63: 215–221.

Buffone G, Darlington G. Isolation of DNA from biological specimens without extraction with fenol. *Clinical Chemistry*. 1985; 31(1):164–165.

Carvalho C, Don R, Duarte A, et al. IL-17A and IL-17F polymorphisms in rheumatoid arthritis and Sjögren's Syndrome. *Clin Oral Investig*. 2016; 20: 495-502.

Checa Caratachea MA. Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Rev Inst Nal Enf Resp Mex*. 2007; 20(3): 213-221.

Chen XQ, Yu YC, Deng HH, Sun JZ, et al. Plasma IL-17A is increased in new-onset SLE patients and associated with disease activity. *J Clin Immunol*. 2010; 30(2): 221–5.

Chen DY, Chen YM, Wen MC, et al. The potential role of Th17 cells and Th17-related cytokines in the pathogenesis of lupus nephritis. *Lupus*. 2012; 21:1385–1396.

Choy E, Panayi G. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, 2001; 344 (12): 907-916.

Costenbader KH, Gay S, Alarcón-Riquelme ME, Iaccarino L, Doria A. Genes, epigenetic regulation and environmental factors: which is the most relevant in developing autoimmune diseases? *Autoimmun Rev*. 2012; 11(8): 604-9.

Crispin JC, Oukka M, Bayliss G, Cohen RA, et al. Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. *J Immunol*. 2008; 181(12):8761–6.

Cubides HH, Mora CM, Parra LV, Londono J. Perfil de citocinas relacionadas con linfocitos Th17: rol fisiopatológico y potencial uso como biomarcadores de actividad del lupus eritematoso sistémico. *Rev Colomb Reumatol*. 2015; 22(4): 217–224.

Dai C, Deng Y, Quinlan A, Gaskin F, et al. . Genetics of systemic lupus erythematosus: immune responses and end organ resistance to damage. *Current opinion in immunology*. 2014; 31:87–96.

Dhaouadi T, Chahbi M, Haouami Y, Sfar I, et al. IL-17A, IL-17RC polymorphisms and IL17 plasma levels in Tunisian patients with rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2018; 13(3): e0194883.

Dolff S, Quandt D, Wilde B, Feldkamp T, et al. Increased expression of costimulatory markers CD134 and CD80 on interleukin-17 producing T cells in patients with systemic lupus erythematosus. 2010; *Arthritis Res Ther*. 12: R150.

Dong G, Ye R, Shi W et al. IL-17 induces autoantibody overproduction and peripheral blood mononuclear cell overexpression of IL-6 in lupus nephritis patients. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116:543–8.

Elewa EA, Zakaria O, Mohamed EI, Boghdadi G. The role of interleukins 4, 17 and interferon gamma as biomarkers in patients with Systemic Lupus Erythematosus and their correlation with disease activity. *Egypt Rheumatol*. 2014; 36(1): 21–7.

Enríquez-Mejía M. Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico. *Revista de Medicina e Investigación*. 2013; 1(1): 8-16.

Erkol E, Gorukmez O, Dünder U, et al. The influence of polymorphisms of interleukin-17A and -17F genes on susceptibility and activity of rheumatoid arthritis. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2015; 19: 461-464.

Espinosa-Morales R, Arreola H, Peña A. Peso económico de la artritis reumatoide en la población mexicana. *Estudio RACE. Reumatol Clin*. 2006; 2:15.

Espinoza JL, Takami A, Nakata K, Onizuka M, et al. A genetic variant in the IL-17 promoter is functionally associated with acute graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation. *Plos One*. 2011; (6):10 e26229.

Eyre-Walker YC, Eyre-Walker A. The role of mutation rate variation and genetic diversity in the architecture of human disease. *PLoS One*. 2014; 9(2): e90166.

Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature*. 2003; 423:356–61.

Flores-García Y, Talamás-Rohana P. Interleucina 17, Funciones biológicas y su receptor. *REB*; 2012; 31(1):3-9.

García de la Peña M, Méndez Cruz R, Garrido Guerrero E, Galicia López A, et al.. Polymorphism rs2275913 of Interleukin-17A is related to more intensive therapy with disease-modifying anti rheumatic drugs in Mexican patients with Rheumatoid Arthritis. *Acta Reumatol Port*. 2017; 42(2): 155-161.

Gaston JS, Jadon DR. Th17 cell responses in spondyloarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2018 (6): 777-796.

Gatto M, Zen M, Ghirardello A, Bettio S, et al. Emerging and critical issues in the pathogenesis of lupus. *Autoimmun Rev* 2013; 12(4): 523–36.

Ghodke-Puranik Y, Niewold TB. Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. *J Autoimmun*. 2015; 64: 125-36.

Giancchetti E, Delfino DV, Fierabracci A. NK cells in autoimmune diseases: Linking innate and adaptive immune responses. *Autoimmun Rev*. 2018; 17(2):142-154.

Gottschalk TA, Tsantikos E, Hibbs ML. Pathogenic Inflammation and Its Therapeutic Targeting in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol*. 2015; 28(6):550.

González Ruiz JR. Diseño y análisis de investigaciones clínicas. Diseño y análisis de estudios genéticos. 2017.

Gregersen PK. Susceptibility genes for rheumatoid arthritis-a rapid expanding harvest. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2010; 68(3):179-82.

Guías de Práctica clínica en el SNS, Guías de práctica clínica sobre lupus eritematoso sistémico. GPC\_549\_Lupus\_SESCS\_compl.pdf. España 2015.

Guía de Práctica Clínica GPC, Diagnóstico y Tratamiento de Lupus eritematosos mucocutáneo. IMSS-533-11. Consejo de Salubridad General. 2011

Gullick NJ, Abozaid HS, Jayaraj DM, Evans HG, et al. Enhanced and persistent levels of interleukin (IL)-17<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T cells and serum IL-17 in patients with early inflammatory arthritis. *Clin Exp Immunol.* 2013; 174(2): 292-301.

Oliva-Gutiérrez E, Martínez-Godoy M, Zapata-Zúñiga M, Sánchez-Rodríguez S. Artritis reumatoide: Prevalencia, inmunopatogenia, y antígenos relevantes para su diagnóstico. *Archivos de Medicina.* 2012. Vol (8) 1:3

Hammad A, Mosaad YM, Hammad EM, Elhanbly S, et al. Interleukin-17A rs2275913, Interleukin-17F rs763780 and rs2397084 gene polymorphisms as possible risk factors in Juvenile lupus and lupus related nephritis. *Autoimmunity.* 2016; 49(1): 31-40.

Hernández-Romano J, Martínez-Barnetche J, Valverde-Garduño V. Polimorfismos reguladores y su participación en la patogenia de enfermedades complejas en la era posgenómica. *Salud Pública de México* . 2009; 51, Suplemento 3.

Herrero-Beaumont G, Martínez Calatrava JM, Castañeda S. Mecanismo de acción de abatacept: concordancia con su perfil clínico. *Reumatol Clin.* 2012; 8(2):78–83.

Holland PM, Abramson RD, Watson R, Gelfand DH. Detection of specific polymerase chain reaction product by utilizing the 5'-3' exonuclease activity of *Thermus aquaticus* DNA polymerase, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; 88(16): 7276-80.

Hughes G, Choubey D. Modulation of autoimmune rheumatic diseases by estrogen and progesterone. *Nat Rev Rheumatol.* 2014; 10(12):740-51.

Iniesta R, Guino E, Moreno Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit.* 2005. 19(4): 333-41.

International HapMap Project. 2003. *Nature* 426:789–796.

Jadue N, González I. Inmunopatogenia de las enfermedades autoinmunes. *Rev. Med. Clin. Condes* 2012; 23(4) 464-472.



Jiménez-Morales S, Velázquez-Cruz R, Ramírez-Bello J, Bonilla-González E, et al. Tumor necrosis factor-alpha is a common genetic risk factor for asthma, juvenile rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus in a Mexican pediatric population. *Hum Immunol.* 2009; 70(4): 251-6.

Karlson EW, Deane K. Environmental and gene-environment interactions and risk of rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2012; 38(2):405-26.

Kim S, Kim ES, Moon CM, Park JJ, et al. Genetic polymorphisms of IL-23R and IL-17A and novel insights into their associations with inflammatory bowel disease. *Gut.* 2011; 60: 1527-1536.

Kittaris VC. Systemic lupus erythematosus: from genes to organ damage. *Methods Mol Biol.* 2010; 66: 265-283.

Koga T, Ichinose K, Tsokos GC. T cells and IL-17 in lupus nephritis. *Clin Immunol.* 2017; 185: 95-99.

Lee YH, Bae SC. Associations between circulating IL-17 levels and rheumatoid arthritis and between IL-17 gene polymorphisms and disease susceptibility: a meta-analysis. *Postgrad Med J* 2017; 0: 1–7.

Leipe J, Grunke M, Dechant C. et al., Role of Th17 cells in human autoimmune arthritis, *Arthritis & Rheumatism.* 2010; 62, 2876–2885.

Li D, Guo B, Wu H, Tan L, et al. Interleukin-17 in systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. *Autoimmunity.* 2015; 48(6):353-61.

Liu DF, Yan J, Guo MY, et al. Correlation study between interleukin-17 and ESR and CRP in serum and the synovial fluid of rheumatoid arthritis patients of accumulated dampness-heat obstruction in joints syndrome. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 2014;34:272–5.

López-Cano D, Cadena-Sandoval D, Beltrán-Ramírez O, Barbosa-Cobos RE, et al. The PTPN22 R263Q polymorphism confers protection against systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis, while PTPN22 R620W confers susceptibility to Graves' disease in a Mexican population. *Inflamm Res.* 2017; 66(9):775-781.

Louahchi S, Allam I, Berkani L, et al. Association study of single nucleotide polymorphisms of IL23R and IL17 in rheumatoid arthritis in the Algerian population. *Acta Reumatol Port.* 2016; 41:151-157.

Lozano Soto F. Introducción al sistema inmunológico, sus principales elementos y la respuesta inmunitaria. 2012; Barcelona, España: Elsevier España. pp. 2453-2488.

Martin JC, Baeten DL, Josien R. Emerging role of IL-17 and Th17 cells in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2014; 154(1): 1-12.

Martínez-Godoy M, Oliva-Gutiérrez E, Zapata-Zúñiga M, Sánchez-Rodríguez S. Lupus eritematoso generalizado: Características generales, inmunopatogenia, y antígenos de relevancia. *Archivos de Medicina.* 2012. Vol 8 1:2

Martínez Larrarte J, Reyes Pineda Y, Prada Hernández D. Aspectos teórico-prácticos de la inflamación en las enfermedades reumáticas. *Rev Cubana Med Gen Integr* 2007; 23(2).

Martínez-Marignac VL, Valladares A, Cameron E, Chan A, et al. Admixture in Mexico City: implications for admixture mapping of type 2 diabetes genetic risk factors. *Hum Genet.* 2007. 120(6): 807-19.

Marwa O, Kalthoum T, Wajih K, Kamel H. Association of IL17A and IL17F genes with rheumatoid arthritis disease and the impact of genetic polymorphisms on response to treatment. *Immunol Lett.* 2017; 183:24-36.

Mellado M, Martínez-Muñoz L, Cascio G, Lucas P, et al. T Cell Migration in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol.* 2015; 27(6): 384.

Mi Ra Cho. Targeting interleukin-17 and Th17 in immune inflammatory diseases. *Hanyang Med Rev.* 2013. 33(1): 17-26.

Moreno J, Vázquez Ortíz G, López Blanco J, López Romero R, et al. Hacia un tratamiento no empírico de la artritis reumatoide basado en su patogenia molecular. *Reumatol Clin.* 2008; 4(1): 19-31.

Nakae S, Nambu A, Sudo K, Iwakura Y. Suppression of immune induction of collagen-induced arthritis in IL-17-deficient mice. *J Immunol.* 2003; 171:6173–7.

Nalbandian A, Crispín JC, Tsokos GC. Interleukin-17 and systemic lupus erythematosus: current concepts. *Clin Exp Immunol.* 2009; 157(2): 209-15.

Ngo ST, Steyn FJ, McCombe PA. Gender differences in autoimmune disease. *Front Neuroendocrinol.* 2014; 35(3): 347-69.

Niu Q, Cai B, Huang Z, et al. Disturbed Th17/Treg balance in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2012; 32:2731–6.

Nordang G, Viken JE, Hollis-Moffatt, et al. Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand. *Rheumatology.* 2009; 48: 367–370.

Ortona E, Pierdominici M, Maselli A, Veroni C, et al. Sex-based differences in autoimmune diseases. *Ann Ist Super Sanita.* 2016; 52(2): 205-12.

Pavlovic V, Dimic A, Milenkovic S, et al. Serum levels of IL-17, IL-4, and INF $\gamma$  in Serbian patients with early rheumatoid arthritis. *J Res Med Sci* 2014; 19:18–22.

Pawlik A, Kotrych D, Malinowski D, Dziedziejko V, et al. IL17A and IL17F gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016; 11:17:208.

Peláez-Ballestas I, Sanin LH, Moreno-Montoya J, Alvarez-Nemegyei J. et al. Grupo de Estudio Epidemiológico de Enfermedades Musculo Articulares (GEEMA). Epidemiology of the rheumatic diseases in México. A study of 5 regions base on the COPCORD methodology. *J. Rheumatol Suppl.* 2011; 38 (3): 585-590.

Pollard KM, Hultman P, Kono DH, Immunology and genetics of induced systemic autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2005; 4(5): 282-8.

Qian W, La Cava A. IL-17 in systemic lupus erythematosus. *Clin. Invest.* 2012; 2(4): 417–421.

Qi Y, Zheng H, Liu N, Guo T et al. Genetic association between interleukin-17A gene polymorphisms and the pathogenesis of Graves' disease in the Han Chinese population. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2016; 84(2): 265-270.

Ramírez-Bello J, Cadena-Sandoval D, Mendoza-Rincón JF, Barbosa-Cobos RE, et al. Tumor necrosis factor gene polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus susceptibility or lupus nephritis in Mexican patients. *Immunol Res.* 2018; 66(3):348-354.

Ramírez-Bello J, Vargas-Alarcón G, Tovilla-Zárate C, Fragoso JM. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gac Med Mex.* 2013; 149(2):220-8.

Ramos PS, Shaftman SR, Ward RC, Langefeld CD. Genes associated with SLE are targets of recent positive selection. *Autoimmune Dis.* 2014; 2014: 203435.

Rincón J, Cano DL, Morales S, Jiménez M, et al. The functional PTPN22 C1858T polymorphism confers risk for rheumatoid arthritis in patients from Central Mexico. *Clin Rheumatol.* 2016 35(6):1457-62.

Rivas-Larrauri F, Yamazaki-Nakashimada MA. Systemic lupus erythematosus: Is it one disease? *Reumatol Clin.* 2016; 12 (5): 274-81.

Rodríguez-Elias A, Maldonado-Murillo K, López-Mendoza L, Ramírez-Bello J. Genética y Genómica en artritis reumatoide (AR). Una actualización. *Gac Med Mex.* 2016; 152: 218-27.

Romero Jurado. Artritis Reumatoide. *Conartritis* 2010.

Rose AM, Bell LC. Epistasis and immunity: the role of genetic interactions in autoimmune disease. *Immunology*, 2012; 137: 131-8.

Sánchez-Ramón S, López-Longo FJ, Carreño L. Interleukins network in rheumatoid arthritis pathophysiology: beyond proinflammatory cytokines. *Reumatol Clin.* 2011; 6S3: S20 – 4.

Santos EC, Pinto AC, Klumb EM, Macedo JM. Polymorphisms in NAT2 (N-acetyltransferase 2) gene in patients with systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol Engl Ed.* 2016; 56(6): 521-529.

Sandip C, Tan L, Huang J, Li Q, et al. Common variants in IL-17A/IL-17RA axis contribute to predisposition to and progression of congestive heart failure. *Medicine*. 2016. 95(27): e4105.

Stahl EA, Raychaudhuri S, Remmers EF, Xie G, Eyre S. Genome-wide association study meta-analysis identifies seven new rheumatoid arthritis risk loci. *Nat Genet*. 2010 Jun;42(6):508-14.

Serrano Hernández A. Helper (TH1, TH2, TH17) and regulatory cells (Treg, TH3, NKT) in Rheumatoid arthritis. *Reumatol Clin*. 2009; 5 Suppl 1:1-5.

Shen L, Zhang H, Yan T, Zhou G, Liu R. Association between interleukin 17A polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Gene*. 2015; 566(1):18-22.

Su GB, Guo XL, Liu XC, Cui QT et al. Association between interleukin-17A polymorphisms and coronary artery disease susceptibility in the Chinese Han population. *Genet Mol Res*. 2016 15(3):gmr15038235.

Tabarkiewicz J, Pogoda K, Karczmarczyk A, Pozarowski P, Giannopoulos K. The Role of IL-17 and Th17 Lymphocytes in Autoimmune Diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015; 63(6):435-49.

Tamay de Dios L, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en Discapacidad*. 2013; 2(2): 70-78.

Tanasescu C, Balanescu E, Balanescu P, Olteanu R, et al. IL-17 in cutaneous lupus erythematosus. *Eur J Intern Med*. 2010; 21(3):202–7.

Tedeschi SK, Bermas B, Costenbader KH. Sexual disparities in the incidence and course of SLE and RA. *Clin Immunol*. 2013; 149(2):211-8.

Tincani A, Andreoli L, Cavazzana I. et al. Novel aspects of Sjögren syndrome in 2012; *BMC Med* 2013; 11:93.

Tsokos G. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2011. 365:2110-2121.

Vargas-Alarcón G, Angeles-Martínez J, Villarreal-Molina T, Alvarez-León E, et al. Interleukin-17A gene haplotypes are associated with risk of premature coronary artery disease in Mexican patients from the Genetics of Atherosclerotic Disease (GEA) study. *Plos One*. 2015; 23; 10(1): e0114943.

Velázquez-Cruz R, Jiménez-Morales S, Ramírez-Bello J, Aguilar-Delfín I, et al. Lupus eritematoso sistémico (LES): genómica de la enfermedad. *Gaceta Médica de México*. 2012; 148: 371-80.

Vélez Marín VM, París Ángel SC, García Moreno LF. Interleucina-17: características, vías de diferenciación, señalización y funciones biológicas. *IATREIA*. 2007; 20(2): 186-195.

Wang Y, Ito S, Chino Y et al. Laser microdissection-based analysis of cytokine balance in the kidneys of patients with lupus nephritis. *Clin. Exp. Immunol.* 2009; 159: 1–10.

Wilhelmson AS, Lantero M, Stubelius A, Fogelstrand P. Testosterone is an endogenous regulator of BAFF and splenic B cell number. *Nat Commun.* 2018; 25;9(1):2067.

Wong CK, Ho CY, Li EK, Lam CW. Elevation of proinflammatory cytokine (IL-18, IL-17, IL-12) and Th2 cytokine (IL-4) concentrations in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2000; 9(8):589–93.

Wong CK, Lit LC, Tam LS, Li EK, et al. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in auto-immunity. *Clin Immunol.* 2008; 127(3): 385–93.

Xu H, Pan Y, Li W, Fu H, et al. Association between IL17A and IL17F polymorphisms and risk of Henoch–Schonlein purpura in Chinese children. *Rheumatol Int.* 2016; 36(6): 829-35.

Zhang X, Xu P, Wang Y, Jiang W, et al. Genetic polymorphisms of interleukin 17A and interleukin F and their association with inflammatory bowel disease in a Chinese Han population. *Inflamm Res.* 2013. 62(8): 743-50.

Yang J, Chu Y, Yang X, Gao D, et al. Th17 and natural Treg cell population dynamics in systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* 2009; 60(5): 1472–1483.

Yan N, Yu YL, Yang J, Qin Q. Association of interleukin-17A and -17F single nucleotide polymorphisms with autoimmune thyroid diseases. *Autoimmunity.* 2012. 45(7): 533-9.

**13**

---

**ANEXOS**

## HOJA DE CAPTACIÓN DE DATOS PARA PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE

Criterios de exclusión, VIH, Hepatitis B y C, Influenza \_\_\_\_\_ Próxima cita?? \_\_\_\_\_  
 Fecha de toma de muestra \_\_\_\_\_ Fecha de Diagnóstico: \_\_\_\_\_ Número de expediente: \_\_\_\_\_  
 Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Género: \_\_\_\_\_  
 Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_

Antecedentes de nacionalidad extranjera en: Padres, Abuelos, Bisabuelos.

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Especificar \_\_\_\_\_

<p><b>Datos paternos</b></p> <p>Lugar de nacimiento del padre: _____, abuelo: _____, abuela: _____</p>	<p><b>Datos maternos</b></p> <p>Lugar de nacimiento del padre: _____, abuelo: _____, abuela: _____</p>
--	--

Teléfono de casa: \_\_\_\_\_ Número de celular: \_\_\_\_\_

Usted, además de AR, tiene síndrome de Sjögren, LES, diabetes tipo 1, tiroiditis autoinmune (Tiroiditis de Hashimoto (hipotiroidismo autoinmune), enfermedad de Graves (Hipertiroidismo autoinmune), colitis ulcerosa, hígado autoinmune u otra enfermedad autoinmune, síndrome de anti-fosfolípidos, \_\_\_\_\_?

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_Cuál? \_\_\_\_\_

Rasgos clínicos: afectación en manos? \_\_\_\_\_, rodillas? \_\_\_\_\_, cadera? \_\_\_\_\_, cuello? \_\_\_\_\_, otras articulaciones? \_\_\_\_\_, cuáles? \_\_\_\_\_

Algún órgano afectado? ojos (uveítis)? \_\_\_\_\_, pulmones? \_\_\_\_\_, corazón (pleuritis)? \_\_\_\_\_, piel? \_\_\_\_\_, vasos sanguíneos (vasculitis)?, nódulos reumatoides? \_\_\_\_\_, otro? \_\_\_\_\_

Tiene o tuvo factor reumatoide positivo o negativo? \_\_\_\_\_, valor \_\_\_\_\_, anticuerpos anticíclicos citrulinados positivo o negativo? \_\_\_\_\_, valor \_\_\_\_\_, otros autoanticuerpos? \_\_\_\_\_, cuáles? \_\_\_\_\_

DAS28? \_\_\_\_\_, activo ¿??? \_\_\_\_\_, en remisión? \_\_\_\_\_

Sus padres, abuelos o hermanos presentaron AR, LES, síndrome de Sjögren, diabetes tipo 1, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, colitis ulcerosa, hígado autoinmune? u otras enfermedad autoinmune?

Si, \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_, Quién (es)? \_\_\_\_\_

Antecedentes hereditarios de tumores sólidos (mama, cervicouterino, colon, próstata, hepáticos, de pulmón, entre otros) o líquidos (leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica crónica) :

Usted	Padre	Madre	Abuelos Paternos	Abuelos maternos
Si _____, No _____	Si _____, No _____	Si _____, No _____	Si _____, No _____	Si _____, No _____
Cuál o cuáles?	Cuál o cuáles?	Cuál o cuáles?	Cuál o cuáles?	Cuál o cuáles?

Es Usted diabético/a? Si \_\_\_\_\_, No \_\_\_\_\_, hipertenso? \_\_\_\_\_, Peso \_\_\_\_\_, talla \_\_\_\_\_, IMC, \_\_\_\_\_, Obesidad \_\_\_\_\_, edad de cuando tuvo su primer hijo \_\_\_\_\_, toma de anticonceptivos orales \_\_\_\_\_, fuma? \_\_\_\_\_, cuántos cigarros al día?, fumó alguna vez en su vida? \_\_\_\_\_, estuvo cerca de alguna persona que fumaba? \_\_\_\_\_, cuántos cigarros fumaba? \_\_\_\_\_

Es alérgico a algún alimento? \_\_\_\_\_, cuál?, \_\_\_\_\_ algún medicamento? \_\_\_\_\_, cuál? \_\_\_\_\_ aditivo alimentario? \_\_\_\_\_

Presenta en este momento alguna infección viral, bacteriana? Si \_\_\_\_\_, No \_\_\_\_\_, cuál? \_\_\_\_\_

Qué medicamentos está tomando para AR? \_\_\_\_\_, cuáles ha tomado? \_\_\_\_\_, ha estado con terapia biológica? \_\_\_\_\_, erosión del hueso? \_\_\_\_\_

Email \_\_\_\_\_, Facebook \_\_\_\_\_, Expediente \_\_\_\_\_

## HOJA DE CAPTACIÓN DE DATOS PARA PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Email: \_\_\_\_\_, Facebook: \_\_\_\_\_ Próxima cita \_\_\_\_\_

### Criterios de exclusión:

Alguna infección crónica viral? VIH, \_\_\_\_\_, Hepatitis B o C? \_\_\_\_\_, con H1N1 o bacteriana?

Fecha de hoy \_\_\_\_\_, de nacimiento \_\_\_\_\_ de diagnóstico? \_\_\_\_\_ Número de expediente: \_\_\_\_\_  
Nombre: \_\_\_\_\_, Edad: \_\_\_\_\_, Género: \_\_\_\_\_

Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_, antecedentes de nacionalidad extranjera en padres, abuelos, y bisabuelos. Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Especificar \_\_\_\_\_

Datos paternos	Datos maternos
Lugar de nacimiento del padre: _____	Lugar de nacimiento del padre: _____
del abuelo: _____, de la abuela: _____	del abuelo: _____, de la abuela: _____

Teléfono de casa: \_\_\_\_\_ Número de celular: \_\_\_\_\_

Usted además de LES tiene? diabetes tipo 1, tiroiditis autoinmune (Tiroiditis de Hashimoto (hipotiroidismo autoinmune), enfermedad de Graves (Hipertiroidismo autoinmune), colitis ulcerosa, hígado autoinmune u otra enfermedad autoinmune, síndrome de anti-fosfolípidos, \_\_\_\_\_?

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_Cuál? \_\_\_\_\_

Sus padres, abuelos (paternos y maternos) o hermanos presentaron AR, LES, síndrome de Sjögren, colitis ulcerosa, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, diabetes tipo 1, u otras enfermedad autoinmune?

Si, \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_, Quién (es)? \_\_\_\_\_

Tiene o tuvo algún órgano afectado? \_\_\_\_\_, Riñón \_\_\_\_\_, clase \_\_\_\_\_, SNC? \_\_\_\_\_, AR no erosiva? \_\_\_\_\_, eritema malar? \_\_\_\_\_,

Autoanticuerpos al momento del diagnóstico o en el transcurso de la enfermedad? Si \_\_\_\_\_, No \_\_\_\_\_, cuáles \_\_\_\_\_, antinucleares \_\_\_\_\_, antiDNA de doble cadena? \_\_\_\_\_, de cadena simple? \_\_\_\_\_, anti-histonas?, \_\_\_\_\_, anti-C1q, \_\_\_\_\_, anti-Sm \_\_\_\_\_, anti Rho? \_\_\_\_\_

Autoanticuerpos presentes en este momento? Si \_\_\_\_\_, No \_\_\_\_\_

Tiene LES activo Si \_\_\_\_\_, No \_\_\_\_\_, en remisión, si \_\_\_\_\_

Antecedentes hereditarios de tumores sólidos (mama, cervicouterino, colon, próstata, hepáticos, de pulmón, entre otros) o líquidos (leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica crónica) :

Usted	Padre	Madre	Abuelos Paternos	Abuelos maternos
Si _____, No _____	Si _____, No _____	Si _____, No _____	Si _____, No _____	Si _____, No _____
Cuál o cuáles?	Cuál o cuáles?	Cuál o cuáles?	Cuál o cuáles?	Cuál o cuáles?

Es Usted diabético/a? Si \_\_\_\_\_, No \_\_\_\_\_, hipertenso? \_\_\_\_\_, peso \_\_\_\_\_, talla \_\_\_\_\_, IMC, \_\_\_\_\_, Obesidad \_\_\_\_\_, edad de cuando tuvo su primer hijo \_\_\_\_\_, toma de anticonceptivos orales \_\_\_\_\_, fuma? \_\_\_\_\_, cuántos cigarros al día?, fumó alguna vez en su vida? \_\_\_\_\_, estuvo cerca de alguna persona que fumaba? \_\_\_\_\_, cuántos cigarros fumaba? \_\_\_\_\_

Es alérgico a algún alimento? \_\_\_\_\_, cuál?, \_\_\_\_\_ algún medicamento? \_\_\_\_\_, cuál? \_\_\_\_\_ aditivo? \_\_\_\_\_

Qué medicamentos para su enfermedad está tomando actualmente?

Cuáles medicamentos ha tomado anteriormente ¿ prednisona? \_\_\_\_\_, cuáles otros \_\_\_\_\_, terapia biológica? \_\_\_\_\_, cuál terapia y contra que proteína fue? \_\_\_\_\_





# *IL-17A* haplotype confers susceptibility to systemic lupus erythematosus but not to rheumatoid arthritis in Mexican patients

Isela Montúfar-Robles<sup>1,2</sup> | Rosa E. Barbosa-Cobos<sup>3</sup> | Isidro Alemán-Ávila<sup>1</sup> |

Julián Ramírez-Bello 

<sup>1</sup>Laboratorio de Enfermedades Metabólicas y Endocrinas, Hospital Juárez de México, Mexico City, Mexico

<sup>2</sup>Programa de Doctorado en ICES, Facultad de Química, UNAM, Mexico City, Mexico

<sup>3</sup>Servicio de Reumatología, Hospital Juárez de México, Mexico City, Mexico

## Correspondence

Julián Ramírez-Bello, Unidad de Investigación en Enfermedades, Metabólicas y Endócrinas, Hospital Juárez de México, Ciudad de México, México.  
Email: dr.julian.ramirez.hjm@gmail.com

## Funding information

This study was supported by a grant from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT; FOSISS; project no. 233107).

## Abstract

**Aim:** Recent studies highlight the importance of the interleukin (IL)-17A cytokine in systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA). There are also reports of associations between some single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *IL-17A* and RA but not SLE. Notably, these findings have not been replicated in all studied populations. The aim of this study was to investigate whether the *IL-17A* -737 T/C (rs8193036), -444A/G (rs3819024), -197G/A (rs2275913), and -121G/A (rs8193037) SNPs conferred susceptibility to SLE (or lupus nephritis) or to RA in a Mexican population.

**Methods:** The study included 1367 Mexican subjects, 501 with RA, 367 with SLE, and 499 healthy controls. *IL-17A* was genotyped using a TaqMan 5' allelic discrimination assay.

**Results:** Our results showed that the *IL-17A* -737 T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A SNPs had similar genotype and allele frequencies in patients with SLE (or lupus nephritis) or RA and in controls. However, an *IL-17A* haplotype (TAGA) showed an association with SLE susceptibility (odds ratio 2.43,  $P = 0.004$ ) but not with RA susceptibility.

**Conclusions:** These results confirm that the *IL-17A* -737T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A SNPs are not risk factors for RA, but the *IL-17A* TAGA haplotype is a risk factor for SLE. This is the first report to document an association between *IL-17A* and SLE susceptibility in adults.

## KEYWORDS

haplotype, *IL-17A*, rheumatoid arthritis, single nucleotide polymorphism, susceptibility, systemic lupus erythematosus

## 1 | INTRODUCTION

Interleukin 17A (IL-17A) is a proinflammatory protein that is produced primarily by T helper 17 (Th17) cells that induces the synthesis of other pro-inflammatory cytokines, such as tumor necrosis factor and IL-1 $\beta$ .<sup>1</sup> This cytokine promotes the recruitment of monocytes

and neutrophils and enhances the production of chemokines and inflammatory cytokines.<sup>2</sup> Interestingly, IL-17 plays an important role in the pathophysiology of systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA).<sup>3,4</sup> For example, the proportion of Th17 cells and the serum levels of IL-17 are higher in SLE patients than in healthy individuals.<sup>5,6</sup> In addition, high serum levels of IL-17 are

**TABLE 1** Demographic distribution in healthy individuals and RA and SLE patients

	Control n (%)	RA n (%)	SLE n (%)
Total	499 (100)	501 (100)	367 (100)
Age ± SD	52.7 ± 7.9	51 ± 14	38 ± 12
LN/non-LN	-	-	98 (45)/120 (55)
ANA +/-	-	-	198 (90.8)/20 (8.8)

ANA, antinuclear antibodies; LN, lupus nephritis; RA, rheumatoid arthritis; SD, standard deviation; SLE, systemic lupus erythematosus.

associated with active lupus nephritis (LN).<sup>6</sup> Notably, IL-17 and Th17 cells are found at higher levels in the serum or plasma of RA patients compared to controls, and IL-17 levels have been correlated with RA activity.<sup>7-10</sup>

Genetic studies have evaluated the roles of several single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *IL-17A* gene with RA susceptibility or activity,<sup>10-20</sup> but the results have been controversial and unclear. In addition, the *IL-17A* -197G/A SNP was recently reported to confer RA susceptibility in a Mexican population, but the study had a small sample size and low statistical power.<sup>20</sup> To our knowledge, no studies have investigated the roles of *IL-17A* SNPs and their relationships with SLE susceptibility in adult patients; however, one study in Egyptian pediatric patients with SLE identified no associations with the *IL-17A* -197G/A SNP.<sup>21</sup> Thus, the aim of our study was to determine whether the *IL-17A* -121G/A, -197G/A, -444A/G, and -737T/C SNPs are risk factors for RA or SLE in a Mexican population.

## 1 | MATERIALS AND METHODS

### 1.1 | Subjects

We recruited 1367 unrelated Mexican participants for this study: 501 patients with RA, 367 patients with SLE, and 499 healthy controls. All of the healthy individuals and patients with RA or SLE who were included in this study were women and were over 18 years of age. The RA patients were diagnosed according to the 2010 American College of Rheumatology – European League Against Rheumatism (ACR-EULAR) criteria,<sup>22</sup> and the patients with SLE were classified according to the 1997 ACR criteria.<sup>23</sup> The study also included LN data for 218 patients with SLE: 120 without LN and 98 with LN. The control group was selected randomly from Central Mexico and consisted of healthy subjects with no history of autoimmune or inflammatory diseases. This study was conducted according to the ethics guidelines of the Declaration of Helsinki and was approved by the ethics, research, and biosecurity committees of Hospital Juárez de México (HJM 2490/14-B, and HJM 2323/14-B). Written informed consent forms were signed by all participants.

### 1.2 | Genomic DNA extraction

Blood samples (4 mL) were collected from the patients with RA and SLE and from controls into tubes containing ethylenediaminetetraacetic acid. Leukocytes were removed by centrifugation, and the DNA was isolated using a slightly modified version of the standard method, which involves proteinase K digestion and salification.<sup>24</sup>

### 1.3 | Genotyping

The genotypes were determined by an allelic discrimination assay that used TaqMan probes and a CFX96 Touch™ Real-Time Polymerase Chain Reaction (PCR) Detection System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. Four *IL-17A* SNPs were evaluated, namely rs8193037 (-121G/A), rs2275913 (-197G/A), rs3819024 (-444A/G), and rs8193036 (-737T/C), also termed C\_\_25598363\_10, C\_\_15879983\_10, C\_\_11545877\_10, and C\_\_1799585\_10, respectively (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The PCR conditions used for amplification were as follows: 50°C for 2 minutes and 95°C for 8 minutes, followed by 40 cycles of denaturing at 95°C for 15 seconds, and annealing and extension at 60°C for 1 minute. We genotyped the samples twice and the reproducibility was 100%.

### 1.4 | Statistical analysis

All of the SNPs investigated in this study were tested for Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) in cases and controls. The associations of the *IL-17A* SNPs with the diseases was determined by comparing the allele and genotype frequencies between the two groups (patients vs controls) using the Chi-square test and FINETTI Software (<https://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>). Haploview 4.2 software (Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard University, Cambridge, MA, USA) was used to conduct the haplotype analysis and to determine linkage disequilibrium (LD).  $P < 0.05$  was considered statistically significant. The statistical power of this study was estimated using QUANTO software (V.1.2.4) (<http://biostats.usc.edu/cgi-bin/DownloadQuanto.pl>). We also evaluated the genetic associations between *IL-17A* SNPs and RA or SLE susceptibility using three genetic models (codominant, dominant, and recessive models).

## 2 | RESULTS

### 2.1 | Characteristics of the participants

The demographic and clinical characteristics of the subjects are summarized in Table 1. The mean age was 38 (±12) years for patients with SLE, 51 (±14) years for patients with RA, and 52.7 (±7.9) in the control group.

### 2.2 | Association analysis in patients with RA and SLE

The statistical power of our study was 97.7% under a recessive model, taking into account the A allele of the *IL-17A* -121G/A SNP.



The distribution of the genotypes of the 4 *IL-17A* SNPs were in HWE in patients with SLE and with RA and in controls ( $P > 0.05$ ; data not shown). The genotype and allele frequencies of *IL-17A* -121G/A, -197G/A, -444A/G, and -737T/C in RA patients were similar to those in controls; thus, we detected no significant differences under the codominant, dominant, or recessive models. This suggests that the *IL-17A* -121G/A, -197G/A, -444A/G, and -737T/C

SNPs are not risk factors for RA (Table 2). The results were similar in SLE patients and controls. However, under the recessive model, there was an association between the *IL-17A* -197G/A SNP and SLE (odds ratio [OR]: 2.32, 95% CI 1.0%-5.36%,  $P = 0.043$ ).

This association was lost after Bonferroni correction (Table 3). In addition, we found no association between the SNPs and LN (data not shown).

**TABLE 2** Genotypic and allelic frequencies of the *IL-17A*-737T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A polymorphisms and association analysis in patients with RA and healthy individuals

SNP	Model	Genotype or allele	RA	Control	OR	P
			n (%)	n (%)	95% CI	
-121 rs8193037	Codominant	GG	415 (82.8)	430 (86.2)	1.32 (0.93-1.89)	0.11
		GA	82 (16.4)	64 (12.8)		
		AA	4 (0.8)	5 (1)		
		G	912 (91)	924 (92.6)		
		A	90 (9)	74 (7.4)		
	Dominant	GG	415 (82.8)	430 (86.2)	0.96 (0.67-1.37)	0.83
		GA+AA	86 (17.2)	69 (13.8)		
	Recessive	GG+GA	497 (99.2)	494 (99)	0.79 (0.21-2.97)	0.73
		AA	4 (0.8)	5 (1)		
-197 rs2275913	Codominant	GG	370 (73.8)	351 (70.3)	0.81 (0.61-1.08)	0.15
		GA	119 (23.8)	139 (27.9)		
		AA	12 (2.4)	9 (1.8)		
		G	859 (85.7)	841 (84.3)		
		A	143 (14.3)	157 (15.7)		
	Dominant	GG	370 (73.8)	351 (70.3)	0.89 (0.69-1.14)	0.36
		GA+AA	131 (26.2)	148 (29.7)		
	Recessive	GG+GA	489 (97.6)	490 (98.2)	1.33 (0.55-3.19)	0.51
		AA	12 (2.4)	9 (1.8)		
-444 rs3819024	Codominant	AA	363 (72.4)	357 (71.5)	0.81 (0.61-1.08)	0.15
		AG	122 (24.4)	133 (26.7)		
		GG	16 (3.2)	9 (1.8)		
		A	848 (84.6)	847 (84.9)		
		G	154 (15.4)	151 (15.1)		
	Dominant	AA	363 (72.4)	357 (71.5)	0.95 (0.72-1.25)	0.74
		AG+GG	138 (27.6)	142 (28.5)		
	Recessive	AA+GA	485 (96.8)	490 (98.2)	0.55 (0.24-1.27)	0.15
		GG	16 (3.2)	9 (1.8)		
-737 rs8193036	Codominant	TT	323 (64.5)	326 (65.3)	1.12 (0.85-1.48)	0.38
		TC	162 (32.3)	145 (29.1)		
		CC	16 (3.2)	28 (5.6)		
		T	808 (80.6)	797 (79.9)		
		C	194 (19.4)	201 (20.1)		
	Dominant	TT	323 (64.5)	326 (65.3)	0.95 (0.76-1.18)	0.66
		TC+CC	178 (35.5)	173 (34.7)		
	Recessive	TT+TC	485 (96.8)	471 (94.4)	0.55 (0.29-1.04)	0.06
		CC	16 (3.2)	28 (5.6)		



## 1.1 | Haplotype analysis

Allele combinations of the *IL-17A* -121G/A, -197G/A, -444A/G, and -737T/C SNPs showed eight haplotypes for RA (Table 4) and for SLE (Table 5). No haplotype showed an association with RA (Table 4), but

the *IL-17A* TAGA haplotype showed an association with SLE susceptibility (OR = 2.43,  $P = 0.004$ ; Table 5). The *IL-17A* TAGA haplotype was formed by three major alleles (-737T, -444A, and -197G) and by the minor allele of the *IL-17A* -121A polymorphism. The association of the *IL-17A* TAGA haplotype and the risk of SLE remained after

**TABLE 3** Genotypic and allelic frequencies of the *IL-17A*-737T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A polymorphisms and association analysis in patients with SLE and healthy individuals

SNP	Model	Genotype or allele	SLE	Control	OR	<i>P</i>
			n (%)	n (%)	95% CI	
-121 rs8193037	Codominant	GG	302 (82.3)	430 (86.2)	1.37 (0.94-2.01)	0.09
		GA	62 (16.9)	64 (12.8)		
		AA	3 (0.8)	5 (1)		
		G	666 (90.7)	924 (92.6)		
	Dominant	A	68 (9.3)	74 (7.4)	1.27 (0.90-1.79)	0.16
		GG	302 (82.8)	430 (86.2)	1.34 (0.92-1.94)	0.11
	Recessive	GA+AA	65 (17.7)	69 (13.8)		
		GG+GA	364 (99.2)	494 (99)	0.81 (0.19-3.42)	0.77
AA	3 (0.8)	5 (1)				
-197 rs2275913	Codominant	GG	268 (73)	351 (70.3)	0.79 (0.57-1.08)	0.14
		GA	84 (22.9)	139 (27.9)		
		AA	15 (4.1)	9 (1.8)		
		G	620 (84)	841 (84.3)		
	Dominant	A	114 (15.5)	157 (15.7)	0.98 (0.75-1.28)	0.90
		GG	268 (73)	351 (70.3)	0.87 (0.64-1.18)	0.38
	Recessive	GA+AA	99 (27)	148 (29.7)		
		GG+GA	352 (95.9)	490 (98.2)	2.32 (1.0-5.36)	0.043 <sup>a</sup>
AA	15 (4.1)	9 (1.8)				
-444 rs3819024	Codominant	AA	268 (73)	357 (71.5)	0.86 (0.62-1.17)	0.35
		AG	86 (23.5)	133 (26.7)		
		GG	13 (3.5)	9 (1.8)		
		A	622 (84.7)	847 (84.9)		
	Dominant	G	112 (15.3)	151 (15.1)	1.01 (0.77-1.31)	0.94
		AA	268 (73)	357 (71.5)	0.92 (0.68-1.25)	0.63
	Recessive	AG+GG	99 (27)	142 (28.5)		
		AA+GA	354 (96.5)	490 (98.2)	1.99 (0.84-4.72)	0.10
GG	13 (3.5)	9 (1.8)				
-737 rs8193036	Codominant	TT	232 (63.2)	326 (65.3)	1.07 (0.79-1.45)	0.63
		TC	111 (30.2)	145 (29.1)		
		CC	24 (6.6)	28 (5.6)		
		T	575 (78.3)	797 (79.9)		
	Dominant	C	159 (21.7)	201 (20.1)	1.09 (0.86-1.38)	0.44
		TT	232 (63.2)	326 (65.3)	1.1 (0.82-1.45)	0.52
	Recessive	TC+CC	135 (36.8)	173 (34.7)		
		TT+TC	343 (93.4)	471 (94.4)	1.17 (0.67-2.06)	0.56
CC	24 (6.6)	28 (5.6)				

CI, confidence interval; OR, odds ratio; SLE, systemic lupus erythematosus; SNP, single nucleotide polymorphism.

<sup>a</sup> $P =$  This association was lost after Bonferroni correction.

**TABLE 4** Haplotype frequencies and association analysis between *IL-17A* haplotypes in women with rheumatoid arthritis and in controls. The order is: -737T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A

Haplotype	RA (%)	Controls (%)	OR	95% CI	P	P <sub>c</sub>
TAGG	67.6	67.6	1	0.83-1.21	0.98	1
TGAG	7.8	8.8	0.87	0.64-1.20	0.41	0.98
CAGG	5.8	7.1	0.8	0.56-1.15	0.23	0.87
CAGA	6.8	5.9	1.16	0.81-1.66	0.42	0.98
CGAG	3.7	4.2	0.87	0.56-1.37	0.56	0.99
TGGG	2.6	1.5	1.75	0.92-3.32	0.08	0.48
CAAG	1.9	2.2	0.86	0.46-1.60	0.63	0.99
TAGA	1.9	1.5	1.27	0.64-2.51	0.49	0.99

CI, confidence interval; OR, odds ratio; P<sub>c</sub>, corrected P-value after 100 000 permutations.

**TABLE 5** Haplotype frequencies and association analysis between *IL-17A* haplotypes in women with systemic lupus erythematosus (SLE) and in controls. The order is: -737T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A

Haplotype	SLE (%)	Controls (%)	OR	95% CI	P	P <sub>c</sub>
TAGG	62.6	67.0	0.82	0.67-1.0	0.05	0.31
TGAG	9.2	9.1	1.02	0.73-1.41	0.92	1
CAGG	10.2	7.6	1.38	0.99-1.93	0.058	0.36
CAGA	5.6	5.8	0.96	0.64-1.44	0.84	1
CGAG	3.7	4.0	0.91	0.56-1.50	0.73	1
TAGA	<b>3.8</b>	<b>1.6</b>	<b>2.43</b>	<b>1.31-4.53</b>	<b>0.004</b>	<b>0.039</b>
CAAG	1.6	2.2	0.74	0.36-1.15	0.40	0.98
TGGG	1.8	1.5	1.18	0.56-2.50	0.66	0.99

CI, confidence interval; OR, odds ratio; P<sub>c</sub>, corrected P value after 100 000 permutations. Significant P-values are reported in bold type.

100 000 permutations (corrected P = 0.039). On the other hand, no LD was found between the alleles of the 4 *IL-17A* SNPs in RA or in SLE (pairwise  $r^2$  values <0.8; data not shown).

#### 4 | DISCUSSION

*IL-17*, a cytokine produced by Th17 cells, plays a critical role in the pathogenesis of SLE and RA.<sup>3,4,25,26</sup> Previous studies have shown that patients with RA and SLE have a higher proportion of Th17 cells and elevated *IL-17* levels.<sup>5-10</sup> Other studies have shown correlations between high *IL-17* levels and SLE or RA activity.<sup>6,7,10</sup> On the other hand, an *IL-17A* SNP has been associated with RA susceptibility,<sup>19,20</sup> although these findings were not replicated by some studies.<sup>10,12-16,18</sup> Thus, these results are conflicting and inconclusive. For example, a recent study by Garcia de la Peña et al<sup>20</sup> of Mexican patients with RA found an association between the *IL-17A* -197G/A SNP and susceptibility to RA. Conversely, our data suggested that this SNP was not a risk factor for RA in our population. Our data also showed that the *IL-17A* -121G/A, -444A/G, and -737T/C SNPs were not risk factors for RA susceptibility under any genetic model in a Mexican population. Our study differed from that conducted by Garcia de la Peña et al<sup>20</sup> in the size of the sample, the statistical power, the methodology, as well as in other ways. Our study had 97.7% statistical power (n = 501 patients with RA and 499 healthy individuals), while the Garcia de la Peña et

al study evaluated 76 patients with RA and 94 healthy controls. We performed a TaqMan genotyping assay that used TaqMan probes, and genotyped all the samples twice (the reproducibility was 100%). In contrast, the other study used a PCR restricted fragment length polymorphism and sequencing approach.<sup>20</sup> In addition, in a recent study conducted by Vargas-Alarcón et al<sup>27</sup> found a 19% frequency of the *IL-17A*-197A allele in a group of healthy individuals from Mexico (with characteristics similar to our controls) which is similar to the 15.7% frequency that we identify in our control group. In contrast, the Garcia de la Peña et al<sup>20</sup> study reported a 3% frequency of the *IL-17A* -197G/A (+) SNP in healthy individuals. Thus, our findings are in accordance with those of Vargas-Alarcón et al<sup>27</sup> but not with those of Garcia de la Peña et al<sup>20</sup> Our data showed no association between the *IL-17A* -197G/A polymorphism and RA, which is in accordance with findings in Tunisian, Algerian, Brazilian, Polish, and Turkish populations.<sup>10,12-16</sup> However, a study in a Norwegian population identified an association between the *IL-17A* -197G/A SNP and RA susceptibility; this finding may be due to the difference in the ancestry of the population.<sup>19</sup> Thus, additional large studies in different populations are needed to determinate the roles of the *IL-17A* -737T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A SNPs with RA and their relationships with RA susceptibility.

This study has some limitations. In particular, we did not record the clinical features of the patients or the presence of rheumatoid factor or anticyclic citrullinated peptide antibodies. Accordingly, we



could not determine if the *IL-17A* SNPs were associated with these factors.

Regarding SLE, our data suggested that the *IL-17A* -737T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A SNPs are not risk factors for this autoimmune disease. Although the -197G/A SNP conferred risk for SLE under the recessive model (OR 2.32,  $P = 0.043$ ), this association was no longer significant after Bonferroni correction. In addition, these SNPs did not show associations with LN. Our data are in accordance with that of Hammad et al, who found no association of the *IL-17A* -197G/A SNP with juvenile SLE susceptibility or with LN.<sup>21</sup> However, they reported the GGA haplotype (formed by the *IL-17A* rs2275913 and *IL-17F* rs763780 and rs2397084 polymorphisms) associated with juvenile SLE susceptibility.<sup>21</sup> We also identified the association of the *IL-17A* TAGA haplotype (which comprises the *IL-17A*

-737T, -444A, -197G common alleles plus the -121A minor allele) with adult SLE susceptibility (OR 2.43,  $P = 0.004$ ). This association persisted even after 100 000 permutations (OR 2.43,  $P = 0.039$ ). This suggests that the presence of individual *IL-17A* SNPs is not enough to confer SLE susceptibility; however, the allelic combination (TAGA) of the 4 *IL-17A* SNPs conferred SLE susceptibility (but not LN). As far as we know, there are no functional studies that indicate the effect of the *IL-17A* TAGA haplotype on cell metabolism, or on the expression of both messenger RNA (mRNA) and protein levels of *IL-17A* in patients with different diseases. However, some studies have shown a functional role of *IL-17A* -197G/A, and -121G/A on *IL-17A* expression.<sup>28,29</sup> For example, a study published in 2011 showed that the *IL-17A* -197A allele correlates with high levels of *IL-17A* (both mRNA and protein) in T cells from healthy individuals.<sup>28</sup> On the other hand, the *IL-17A* -121A allele has also been reported to have biological effects and alters gene expression.<sup>29</sup> Our data showed that none of the 4 *IL-17A* SNPs, including the -197G/A, or -121G/A polymorphisms confer susceptibility to SLE or RA. However, the *IL-17A* -121A allele (minor allele) of the TAGA haplotype is the variant that causes risk for SLE (Table 5); only in combination with the other major alleles of the *IL-17A* -737T/C, -444A/G and -197G/A SNPs, does the -121A allele confer SLE susceptibility. To note, a recent study conducted by Vargas-Alarcón et al identified (in a Mexican population) a similar find; the *IL-17A* TAGA haplotype is associated with susceptibility to coronary artery disease (CAD). In addition, they also did not identify an individual association of these 4 *IL-17A* polymorphisms with CAD.<sup>27</sup>

Since the association observed between SLE and the *IL-17A* TAGA haplotype is influenced by the -121A allele, future studies should be carried out to assess the functional impact of this allele (in combination with the other three alleles) on *IL-17A* expression.

One of the limitations of our study is not having the clinical data of patients with SLE (except LN). In this way, we cannot rule out the role of these *IL-17A* variants on certain clinical features.

Our data show that the *IL-17A* -737T/C, -444A/G, -197G/A, and -121G/A SNPs are not risk factors for RA. This is the first study to report an association of the *IL-17A* TAGA haplotype with SLE susceptibility. None of the *IL-17A* polymorphisms we studied showed associations with LN.

## ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to express their gratitude to Daniel Cadena Sandoval for help with the LD analysis.

## CONFLICT OF INTEREST

We have no personal or financial conflicts of interest regarding this manuscript.

## ORCID

Julián Ramírez-Bello  <http://orcid.org/0000-0002-4153-9315>

## REFERENCES

- Liu Y, Zhao Q, Yin Y, McNutt M, Zhang T, Cao Y. Serum levels of *IL-17* are elevated in patients with acute gouty arthritis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;497:897-902.
- Chizzolini C, Dufour A, Bremilla N. Is there a role for *IL-17* in the pathogenesis of systemic sclerosis? *Immunol Lett*. 2018;195:61-67.
- Lubberts E. *Th17* cytokines and arthritis. *Semin Immunopathol*. 2010;32:43-53.
- Brkic Z, Corneth OB, van Helden-Meeuwse CG, et al. T-helper 17 cell cytokines and interferon type I: partners in crime in systemic lupus erythematosus? *Arthritis Res Ther*. 2014;16:R62.
- Pereira A, Mesquita D, de Melo W, et al. *Th17* cells and CD4(+) multifunctional T cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Rev Bras Reumatol Engl Ed*. 2016;56:28-36.
- Mok Y, Wu J, Lo Y, Lau S. The relation of interleukin 17(*IL-17*) and *IL-23* to *Th1/Th2* cytokines and disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*. 2010;37:2046-2052.
- Silosi I, Boldeanu M, Cojocaru M, et al. The relationship of cytokines *IL-23* and *IL-17* with autoantibodies profile in early rheumatoid arthritis. *J Immunol Res*. 2016;2016:3109135.
- Gullick N, Abozaid H, Jayaraj D, et al. Enhanced and persistent levels of interleukin (*IL*)-17<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T cells and serum *IL-17* in patients with early inflammatory arthritis. *Clin Exp Immunol*. 2013;4:292-301.
- Gümüş P, Buduneli E, Büyükoğlu B, et al. Gingival crevicular fluid, serum levels of receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, osteoprotegerin, and interleukin-17 in patients with rheumatoid arthritis and osteoporosis and with periodontal disease. *J Periodontol*. 2013;4:1627-1637.
- Dhaouadi T, Chahbi M, Haouami Y, et al. *IL-17A*, *IL-17RC* polymorphisms and *IL17* plasma levels in Tunisian patients with rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2018;13:e0194883.
- Gomes da Silva II, Angelo H, Rushansky E, et al. Interleukin (*IL*)-23 receptor, *IL-17A* and *IL-17F* gene polymorphisms in Brazilian patients with rheumatoid arthritis. *Arch Immunol The Exp (Warsz)*. 2017;5(5):37-543.
- Marwa O, Kalthoum T, Wajih K, Kamel H. Association of *IL17A* and *IL17F* genes with rheumatoid arthritis disease and the impact of genetic polymorphisms on response to treatment. *Immunol Lett*. 2017;183:24-36.
- Louahchi S, Allam I, Berkani L, et al. Association study of single nucleotide polymorphisms of *IL23R* and *IL17* in rheumatoid arthritis in the Algerian population. *Acta Reumatol Port*. 2016;41:151-157.
- Pawlik A, Kotrych D, Malinowski D, et al. *IL17A* and *IL17F* gene polymorphisms in patients with rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016;17:208.
- Carvalho C, Don R, Duarte A, et al. *IL-17A* and *IL-17F* polymorphisms in rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome. *Clin Oral Investig*. 2016;20:495-502.

1. Erkol E, Gorukmez O, Dündar U, et al. The influence of polymorphisms of interleukin-17A and -17F genes on susceptibility and activity of rheumatoid arthritis. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2015;19:461-464.
2. Shen L, Zhang H, Yan T, et al. Association between interleukin 17A polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis in a Chinese population. *Gene*. 2015;566:18-22.
3. Bogunia-Kubik K, Swierkot J, Malak A, et al. IL-17A, IL-17F and IL-23R gene polymorphisms in Polish patients with rheumatoid arthritis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015;63:215-221.
4. Nordang G, Viken M, Hollis-Moffatt JE, et al. Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand. *Rheumatology (Oxford)*. 2009;48:367-370.
5. García de la Peña M, Méndez R, Garrido E, et al. Polymorphism rs2275913 of Interleukin-17A is related to more intensive therapy with disease-modifying anti rheumatic drugs in Mexican patients with Rheumatoid Arthritis. *Acta Reumatol Port*. 2017;42:155-161.
6. Hammad A, Mosaad Y, Hammad E, et al. Interleukin-17A rs2275913, Interleukin-17F rs763780 and rs2397084 gene polymorphisms as possible risk factors in Juvenile lupus and lupus related nephritis. *Autoimmunity*. 2016;49:31-40.
7. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2010;62:2569-2581.
8. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus [letter]. *Arthritis Rheum*. 1997;40:1725.
9. Debomoy L, Nurnberger J. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res*. 1991;19:5444.
10. Tabarkiewicz J, Pogoda K, Karczmarczyk A, et al. The role of IL-17 and Th17 lymphocytes in autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015;63:435-449.
11. Cubides H, Mora C, Parra L, Londono J. Perfil de citocinas relacionadas con linfocitos Th17: rol fisiopatológico y potencial uso como biomarcadores de actividad del lupus eritematoso sistémico. *Rev Colomb Reumatol*. 2015;22:217-224.
12. Vargas-Alarcón G, Angeles-Martínez J, Villarreal-Molina T, et al. Interleukin-17A gene haplotypes are associated with risk of premature coronary artery disease in Mexican patients from the Genetics of Atherosclerotic Disease (GEA) study. *PLoS One*. 2015;10:e0114943.
13. Espinoza JL, Takami A, Nakata K, et al. A genetic variant in the IL-17 promoter is functionally associated with acute graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation. *PLoS One*. 2011;10:e26229.
14. Kim SW, Kim ES, Moon CM, et al. Genetic polymorphisms of IL-23R and IL-17A and novel insights into their associations with inflammatory bowel disease. *Gut*. 2011;60:1527-1536.

---

**How to cite this article:** Montúfar-Robles I, Barbosa-Cobos RE, Alemán-Ávila I, Ramírez-Bello J. *IL-17A* haplotype confers susceptibility to systemic lupus erythematosus but not to rheumatoid arthritis in Mexican patients. *Int J Rheum Dis*. 2018;00:1-7. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13426>

---