



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES DEL MITOGENOMA
ASOCIADAS A LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO EN
POBLACIÓN PEDIÁTRICA MEXICANA**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA**

**PRESENTA:
ITZEL ALEJANDRA ANGELES VÁZQUEZ**

**DR. HUMBERTO GARCÍA ORTIZ
M. EN C. VICTORIA EDWINA CAMPOS GARCÍA**



**UNAM
CUAUTITLÁN**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2023



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**



UNAM

**DEPARTAMENTO
DE TITULACIÓN**

ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN ALDERRAMA BRAVO
Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Tesis y Examen Profesional**

Identificación de Variantes del Mitogenoma Asociadas a Lupus Eritematoso Sistémico en Población Pediátrica Mexicana.

Que presenta la pasante: **Itzel Alejandra Angeles Vázquez**

Con número de cuenta: **414029880** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica.**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 22 de Mayo de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q. Lidia Elena Ballesteros Hernández	
VOCAL	M. en C. María Llasbeth Hernández Calderón	
SECRETARIO	M. en C. Victoria Edwina Campos García	
1er. SUPLENTE	Dra. María Eugenia Aranda Barradas	
2do. SUPLENTE	M. en C. Oscar Rodríguez Espinosa	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*

Agradecimientos

A la **M. en C. Victoria Edwina Campos García**, por ayudarme a descubrir el potencial y el alcance de la bioinformática, la filogenética, y la genética mitocondrial.

Al **Dr. Humberto García Ortiz**, por aceptarme como su alumna en el INMEGEN, y por tenerme muchísima paciencia desde el primer día en que llegué, hasta el día de hoy. Gracias por todo lo que me ayudó a aprender.

Al **Laboratorio de Enfermedades Inmunogenómicas y Enfermedades Metabólicas** del INMEGEN, por recibirme como tesista y permitirme desarrollar este trabajo.

A la **FES Cuautitlán** y a todos los profesores, por todo lo aprendido en los cuatro años y medio en que fue mi segundo hogar.

A la **UNAM**, que incluso cuando niña soñaba con pisarla como alumna, jamás imaginé todo lo que me llegaría a dar.

A mis **padres**, por impulsarme día con día, incluso cuando me niego a que lo hagan. Gracias por enseñarme que hay más en el mundo de lo que podría imaginar, y por animarme a descubrirlo todo.

A mi hermana, **Andrea**, porque trato de hacer lo mejor para que siempre estés orgullosa de mí.

A todos mis amigos de la FESC: **Karen, Karla Mariana, Mauricio, Sandra, Lizbeth**. Gracias infinitas por el tiempo que pasamos juntos, dentro y fuera del aula; por hacer de la carrera años que no cambiaría por nada; por ayudarnos a crecer, como profesionistas y como personas.

A **Gis, Jackie, Gaby, Aline**: Gracias por acompañarme durante una de las etapas más bonitas de mi vida (que coincidentemente, ocurrió durante el tiempo en que escribí la mayor parte de este trabajo). Los recuerdos que creamos en Universum, y los que seguimos creando hoy, me acompañarán por siempre.

A Aldo y a Ana Melissa, por estar siempre conmigo a pesar de los tres mil kilómetros y seis países que nos separan. Después de tanto tiempo, no imagino una vida sin ustedes. **Aldo**, gracias por ser la persona más graciosa del universo. **Meli**, gracias por escuchar cada pensamiento que sale sin filtro de mi mente.

Al Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina, porque sin ustedes, no hubiera seguido adelante con este trabajo.

*“Todo por amor, nada por la fuerza,
Siempre lo mejor, siempre lo mejor.”*

Índice

Índice.....	3
Índice de Figuras	4
Índice de Tablas	5
Lista de Abreviaturas	6
Resumen	8
Marco Teórico.....	10
1. Lupus Eritematoso Sistémico	10
1.1. Definición	10
1.2. Criterios de Clasificación.....	11
1.3. Epidemiología	14
1.4. Etiopatogenia del Lupus Eritematoso Sistémico.....	16
1.5. Lupus Eritematoso Sistémico Pediátrico	22
1.6. El papel de la mitocondria en la patogenia del Lupus Eritematoso Sistémico.	24
2. La mitocondria y su genoma	29
3. Análisis de Asociación Genética	37
Justificación	41
Hipótesis.....	42
Objetivos.....	42
Objetivo General	42
Objetivos Particulares	42
Metodología.....	43
Población de Estudio.....	43
Estrategia General	44
Análisis estadísticos y bioinformáticos.....	45
3.1.	45
3.2. PLINK v.1.07: Whole genome association analysis toolset	45
3.3. WISARD v.1.3.2: workbench for integrated superfast association studies for related datasets	45
3.4. ADMIXTURE v. 1.23: Fast ancestry estimation	46
3.5. Haplogrep II	47
Resultados.....	48
Discusión	55
Conclusiones	60
Referencias	61

Índice de Figuras

Figura 1. Árbol de haplogrupos de ADNmt, con un mapa mundial de su distribución	32
Figura 2. Mapa del genoma mitocondrial	33
Figura 3. Mapa del transcriptoma mitocondrial	34
Figura 4. Error de tipo I ocasionado por estratificación de la población	38
Figura 5. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la ancestría de los casos y controles incluidos en el estudio comparados con poblaciones de referencia	49
Figura 6. Análisis de ancestría global	50
Figura 7. Comparación de la proporción de la ancestría según tres poblaciones (CEU, YRI y AME) en casos y controles	50
Figura 8. Manhattan Plot de las SNVs del genoma mitocondrial incluidos en el análisis de asociación	53
Figura 9. Estructura tridimensional de la humana.....	53

Índice de Tablas

Tabla 1. Comparación entre los criterios de clasificación del Lupus Eritematoso Sistémico de ACR (1997) y SLICC (2012)	11
Tabla 2. Respuestas inflamatorias dependientes de ADNmt en el Lupus Eritematoso Sistémico	27
Tabla 3. Diferencias entre los codones del genoma nuclear y genoma mitocondrial (ADNmt)	36
Tabla 4. Asociación por regresión logística.....	51
Tabla 5. Frecuencia alélica y genotípica para la variante rs28358578 en poblaciones de referencia de HapMap y en la muestra	52
Tabla 6. Estudio de asociación utilizando pruebas de colapso para determinar la relación entre genes mitocondriales y LES	54
Tabla 7. Frecuencia de haplogrupos del ADN mitocondrial presentes en la población de estudio	55

Lista de Abreviaturas

ACR: American College of Rheumatology (Colegio Americano de Reumatología)
ADN: Ácido Desoxirribonucleico
ADN CpG: ADN Metilado
ADNc: ADN complementario
ADNdc: ADN de Doble Cadena
ADNmt: ADN Mitocondrial
AME: Amerindios
ANA: Anticuerpos Anti-Nucleares
ARN: Ácido Ribonucleico
ARNm: ARN mensajero
ARNr: ARN ribosomal
ARNt: ARN de transferencia
ATP: Adenosín Trifosfato
CDCV: Hipótesis de Enfermedad Común, Variante Común
CDRV: Hipótesis de Enfermedad Común, Variante Rara
CEU: residentes de Utah con ancestría de Europa del Norte y Europa del Oeste de la colección CEPH
cGAS: Sintasa de GMP cíclico-AMP
CMC: Método combinado de colapso y multivarianza
DAMP: Patrón Molecular Asociado a Daños
DHEA: Dehidroepiandrosterona
ECG: Electrocardiograma
ELISA: Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas
FAD: Desaturasas de Ácidos Grasos
GLADEL: Grupo Latinoamericano para el Estudio del Lupus
GWAS: Estudio de Asociación de Genoma Completo
HLA: Antígeno Leucocitario Humano
HN: Humanina
HSP: Promotor de la Cadena Pesada

IC: Inmunocomplejos
LD: Desequilibrio de Ligamiento
LES: Lupus Eritematoso Sistémico
LSP: Promotor de la Cadena Ligera
MAF: Frecuencia del Alelo Menor
mtSSB: Proteína mitocondrial de unión a ADN de cadena simple
NET: Trampas Extracelulares de Neutrófilos
NF-kB: Factor Nuclear kB
OR: Razón de Momios (Odds Ratio)
PCA: Análisis de Componentes Principales
pDC: Células Dendríticas Plasmacitoides
PRR: Receptores de Reconocimiento de Patrones
Puntuación SDI: Índice de Daño SLICC/ACR para LES
ROS: Especies Reactivas de Oxígeno
RPR: Reagina Plasmática Rápida
SELENA: Evaluación Nacional de la Seguridad de los Estrógenos en el Lupus Eritematoso
SLEDAI: Índice de Actividad de Lupus Sistémico Eritematoso
SLICC: Clínicas Colaborativas Internacionales de Lupus Eritematoso Sistémico
SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido
SNV: Variante de un solo nucleótido
STING: Simulador de Genes de Interferón
TDT: Test de Desequilibrio de Transmisión
TLR: Receptor Tipo Toll
YRI: Yoruba de Ibadan, Nigeria

Resumen

El lupus eritematoso sistémico (LES), es una enfermedad autoinmune que afecta entre 20 y 200 personas por cada 100,000 habitantes a nivel mundial, es decir que entre 0.02- 0.2% de habitantes padecen de la enfermedad. En México, la incidencia del LES es del 0.06%, y de manera similar a otras poblaciones no europeas, la enfermedad se presenta con manifestaciones clínicas más agresivas, una edad de inicio más temprana y una mayor frecuencia de períodos de actividad de la enfermedad.

Esta enfermedad se caracteriza por causar daño en diferentes órganos y tejidos debido principalmente a un conjunto de procesos entre los que se encuentran la producción de anticuerpos antinucleares y formación de depósitos de complejos inmunes, que conducen a una respuesta inflamatoria exacerbada. Los factores que intervienen en el desarrollo del LES son ambientales (como solventes, pesticidas, hormonas, infecciones, y la composición del microbioma del individuo) y genéticos. Los factores genéticos son una parte importante del desarrollo del LES, donde se ha observado que la historia familiar de esta enfermedad incrementa drásticamente el riesgo a padecerla. Adicionalmente, se ha estimado que la heredabilidad del LES es del 66% y hasta la fecha, se han identificado más de 90 loci en el genoma nuclear que están asociados a la susceptibilidad para desarrollar LES, la mayoría en genes del HLA y otros del sistema inmune.

La etiopatogenia del LES no está del todo esclarecida, pero se han descrito múltiples vías del sistema inmune involucradas en su desarrollo, como la señalización por medio de receptores tipo toll (TLR), la vía de los interferones tipo I (IFN), defectos en la depuración de complejos inmunes y la apoptosis por mencionar algunas. Por otra parte, estudios recientes, apuntan a que la mitocondria juega un papel central en la patogénesis de la enfermedad, a través de defectos en su funcionamiento, como el aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), incremento del potencial transmembranal, reducción en la generación de ATP y aumento de la masa mitocondrial.

La mitocondria cuenta con su propio genoma (ADNmt), y se ha descrito que las moléculas de ADNmt por sí solas son consideradas como DAMP (Patrones Moleculares Asociados a Daños) en casos donde quedan expuestas al sistema inmune, contribuyendo al desarrollo de autoinmunidad. Existen estudios que ligan algunos polimorfismos del ADNmt a un riesgo incrementado a padecer lupus, localizados en los genes mitocondriales ATP6, ND3 y ND5,

además de la región control del ADNmt. Sin embargo, estos estudios están hechos en poblaciones de origen caucásico, con una composición genética muy distinta a la población mestiza que compone más del 90% de los habitantes de México.

Considerando lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue identificar variantes en el genoma mitocondrial asociadas a la susceptibilidad a lupus eritematoso sistémico en la población pediátrica mexicana. Para esto se realizó un estudio de asociación de casos y controles, incluyendo casos con diagnóstico de LES pediátrico y controles sanos para determinar la existencia de variantes asociadas a LES, además de verificar la ancestría de la población e identificar los haplogrupos mitocondriales de la misma.

Los resultados del estudio de asociación del genoma mitocondrial dieron como resultado el hallazgo de una variante, rs28358578, asociada de manera significativa a LES ($p=0.007697$), presentando un efecto protector contra la enfermedad ($OR=0.1324$). Este SNP se encuentra localizado dentro de la secuencia que codifica para el ARN ribosomal 16S, MT-RNR2, y más específicamente forma parte de una secuencia no codificante en un transcrito no codificante.

De manera significativa, la rs28358578 se encuentra en una proporción más alta en la población mexicana (0.188) en comparación con cualquier población de referencia consultada, por lo que se puede considerar como una variante enriquecida en la población mexicana.

Al no encontrarse dentro de la secuencia de algún péptido con acción en las vías involucradas en la patogénesis del lupus, no está claro de qué manera este SNP ejerce su efecto protector contra lupus. Queda entonces, determinar tanto si es esta la variante causal (o si está asociada a una variante causal por desequilibrio de ligamiento) como el mecanismo de acción de esta variante mitocondrial, con el fin de entender completamente la patogenia del LES.

Marco Teórico

1. Lupus Eritematoso Sistémico

1.1. Definición

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad crónica autoinmune, caracterizada por la producción de anticuerpos antinucleares (AAN), desregulación de la respuesta inflamatoria, afectación de múltiples sistemas de órganos y una amplia heterogeneidad clínica (Ghodke-Puranik & Niewolld, 2015).

El curso de la enfermedad es variable debido a que no se desarrolla de manera lineal, sino que tiene periodos de actividad y periodos de remisión, los que llevan al daño sistémico. Estos ciclos de la enfermedad pueden incluir manifestaciones clínicas como artritis, erupciones, serositis, citopenias, enfermedad renal, y otras manifestaciones de tipo neurológico y psiquiátrico (Agmon-Levin et al., 2012), como meningitis, síndrome desmielinizante, migrañas, coreas, psicosis, desorden de ansiedad, miastenia gravis, entre otras (Jafri et al., 2017).

El daño que produce el lupus se define como la consecuencia irreversible de las manifestaciones de la enfermedad, o del tratamiento usado para combatirlos (González et al., 2013). Este daño crónico se puede medir con la puntuación SDI (The Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index/El índice de daño sistémico de SLICC/ACR); donde se define la cronicidad con duración de la manifestación de por lo menos seis meses (Romero-Díaz et al., 2011). Este daño incluye daño renal, tegumentario, ocular, musculoesquelético, además de malignidad y diabetes (González et al., 2013).

Debido a la diversidad de presentaciones del Lupus, existe debate sobre si es verdaderamente una enfermedad con muchas manifestaciones clínicas o si es un conjunto de enfermedades agrupadas bajo el nombre común de Lupus (Agmon-Levin et al., 2012).

1.2. Criterios de Clasificación

Existen criterios de clasificación de la enfermedad establecidos por dos grupos distintos, el *American College of Rheumatology* (ACR) y el *Systemic Lupus International Collaborating Clinics* (SLICC) (Lisnevskaja et al., 2014). Los criterios del ACR se establecieron por primera vez en 1971, siendo actualizados en 1982 y 1997 (Yu & Chang, 2014). En 2012, después de ocho años de esfuerzos colaborativos, SLICC publicó nuevos criterios para la clasificación del Lupus (Petri et al., 2012). Una comparación entre ambos grupos de criterios se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Comparación entre los criterios de clasificación del Lupus Eritematoso Sistémico de ACR (1997) y SLICC (2012). Adaptada de (Yu & Chang, 2014) y (Fortuna & Brennan, 2013).

	Criterios ACR (1997)	Criterios SLICC (2012)
Manifestaciones cutáneas	<ul style="list-style-type: none"> ● Erupción malar ● Erupción discoide ● Fotosensibilidad ● Úlceras bucales 	<ul style="list-style-type: none"> ● Lupus cutáneo agudo o subagudo ● Lupus cutáneo crónico ● Alopecia no cicatrizal ● Úlceras bucales o nasales
Articulaciones	Artritis no erosiva en por lo menos dos articulaciones periféricas (con dolor, sensibilidad o hinchazón)	Sinovitis en al menos dos articulaciones periféricas (con dolor, sensibilidad, hinchazón, o rigidez matutina de al menos 30 minutos)
Serositis	Serositis con cualquiera de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> ● Historia convincente de dolor pleural ● Roce pleural 	Serositis con cualquiera de los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> ● Pleuritis ● Pleuresía típica (más de un día) ● Roce pleural

	<ul style="list-style-type: none"> • Evidencia de efusión pleural o pericarditis (con ECG) 	<ul style="list-style-type: none"> • Evidencia de efusión pleural • Pericarditis • Dolor pericárdico típico de más de 1 día • Evidencia de efusión pericárdica
Manifestaciones Renales	<p>Enfermedad renal con cualquiera de los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Proteinuria (>0.5g/día) • Cilindros celulares (eritrocitos, hemoglobina, granulares, tubulares o mixtos) 	<p>Enfermedad renal con cualquiera de los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cociente proteína/creatinina o Proteinuria (>0.5 g/día) • Cilindros de eritrocitos
Manifestaciones Neurológicas	<ul style="list-style-type: none"> • Epilepsia o psicosis (no causadas por droga o por errores metabólicos conocidos) 	<ul style="list-style-type: none"> • Epilepsia • Psicosis • Mononeuritis múltiple • Mielitis • Neuropatía craneal o periférica • Cerebritis o síndrome confusional agudo
Manifestaciones Hematológicas	<p>Enfermedad hematológica con cualquiera de lo siguiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anemia hemolítica con reticulocitos elevados • Leucopenia (<4 000/mm³ en por lo menos 2 ocasiones) • Trombocitopenia (<100 000/mm³) 	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia hemolítica • Leucopenia (<4 000/mm³) o Linfopenia (1000/mm³) de forma separada por lo menos una vez • Trombocitopenia (<100 000/mm³) por lo menos una vez

Inmunológicas	<ul style="list-style-type: none"> ● Anticuerpos anti-ADNdc, anti-Sm o antifosfolípidos: Positivos ● Anticuerpos antinucleares: Positivos (en inmunofluorescencia o una prueba equivalente) 	<ul style="list-style-type: none"> ● Anticuerpos antinucleares: Positivos ● Anticuerpos anti-ADNdc: Positivos en al menos 2 ocasiones (no válido con ELISA) ● Anticuerpos anti-Sm ● Anticuerpos antifosfolípidos (incluyendo anticoagulante lúpico, RPR falso positivo, anticardiolipina, anti-B2 glicoproteína 1) ● Bajos niveles de complemento (C3, C4 o CH50) ● Prueba de Coombs directa en la ausencia de anemia hemolítica
<p>El paciente debe presentar al menos 4 de los 11 criterios de manera acumulable, no necesariamente de manera simultánea.</p>	<p>El paciente debe presentar al menos 4 de los 17 criterios, por lo menos uno debe ser clínico y uno inmunológico o presentar nefritis lúpica probada mediante biopsia con la presencia de AAN o anticuerpos anti-ADNdc.</p>	

Mientras que los criterios SLICC son más sensibles, los de ACR son más específicos para la clasificación del Lupus. A pesar de que los criterios SLICC buscan ser clínicamente más relevantes para el diagnóstico (Fortuna & Brennan, 2013), la imperfección de sensibilidad y especificidad de ambos criterios son limitantes para su uso en el diagnóstico clínico, a pesar de ser ampliamente usados en estudios.

Debido a la alta variación de síntomas del lupus, además de su carácter cíclico de periodos de actividad y remisión, se necesitan herramientas para medir el grado de afección lúpica, ya sea cuando esta sea tan grave que comprometa la vida del paciente, o cuando sea prácticamente nula. La importancia de estos índices de actividad es el poder establecer criterios terapéuticos e identificar el daño progresivo del paciente, para un pronóstico a largo plazo y un mejor tratamiento (Miniño, 2008). Para este propósito, existen varios sistemas de medición de actividad lúpica, de los cuales SLEDAI (*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*) es el más utilizado. Este índice fue brevemente descrito en 1986 y ha sufrido varias modificaciones: por el grupo SELENA (*Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment*) y más recientemente, en el 2000 para una versión actualizada llamada SLEDAI-2k (Uribe et al., 2004). Se compone de una lista de la presencia (o ausencia) de 24 síntomas y signos del paciente con lupus, en nueve sistemas de órganos distintos, en el periodo de los diez días previos a la intervención médica. Cada elemento de la lista tiene un puntaje distinto, según el peso que se le asigne a cada ítem (Bombardier et al., 1992).

En México se adaptó SLEDAI, llamándola MEX-SLEDAI, en afán de reducir los costos que implican las pruebas de laboratorio en la versión original del índice. Esta es una escala útil y adaptada para su uso clínico en la mayoría de los centros médicos de México para la medición de actividad del LES con un alto grado de exactitud (89%), a pesar de presentar una relativamente baja sensibilidad (58%) (Uribe et al., 2004); en dicha escala, cuando el puntaje es igual o mayor de siete se considera como LES activo. Esta escala está validada en pacientes adultos mexicanos, y hasta el momento no hay una escala validada en pacientes pediátricos que padecen esta enfermedad en México (Pavón-Sánchez & Sánchez-Sánchez, 2013).

1.3. Epidemiología

Actualmente, la incidencia de lupus eritematoso sistémico en el mundo es de 1-10 por cada 100 mil personas, mientras que la prevalencia es de 20-200 por cada 100 mil personas (Yeoh et al., 2018). Estos números han aumentado a través de los años. En la década de 1970 la prevalencia era de 40 por cada 100 mil personas, hasta llegar a las cifras actuales. La incidencia de la enfermedad no ha sufrido un incremento tan notorio (Lewis & Jawad, 2016).

Además, la prevalencia e incidencia varían según la etnia de la población. Existen diversos estudios que señalan que esta enfermedad tiene más prevalencia en poblaciones no caucásicas, además de que estas poblaciones sufren afectaciones más severas a los distintos sistemas involucrados (Pons-Estel et al., 2015). De manera general, la población afrodescendiente tiene mayor incidencia y prevalencia de lupus en comparación con la población caucásica.

No solo la prevalencia de la enfermedad varía entre diferentes grupos étnicos, las manifestaciones clínicas también son distintas entre ellos. El LES suele tener una edad de inicio más temprana en poblaciones no caucásicas (González et al., 2013).

Por ejemplo, la población mexicana presenta una prevalencia de Lupus Eritematoso Sistémico del 0.06%, además de presentar una enfermedad más severa que poblaciones europeas, con una edad de inicio menor y una mayor frecuencia de períodos de actividad de la patología (Valencia et al., 2017). Considerando solo a mujeres, la prevalencia es de 0.08%, además de que algunas regiones presentan una prevalencia mayor al promedio nacional, como la Ciudad de México (0.09%) y Yucatán (0.07%) (Pelaez-Ballestas et al., 2011).

El nivel socioeconómico del paciente es otro factor que afecta su prognosis, debido a la dificultad que causa un nivel socioeconómico bajo para acceder a servicios de salud (Pons-Estel et al., 2012), sobre todo en países donde predominan los servicios de salud privados (Lewis & Jawad, 2016). En general, las minorías en una población suelen tener un estado socioeconómico bajo, lo que puede hacer que se confundan causas genéticas de manifestaciones severas de la enfermedad con causas ambientales (González et al., 2013).

Las diferencias entre la presentación de la enfermedad causadas por el estado socioeconómico se reflejan también en estudios que comparan pacientes rurales con pacientes en áreas urbanas, donde los últimos suelen presentar mayor grado de estudios, nivel socioeconómico y mejor acceso a servicios sanitarios que los pacientes rurales. En Latinoamérica, los pacientes de lupus en zonas rurales suelen tener un inicio más temprano de la enfermedad, además de presentar comorbilidades como hipertensión y enfermedad renal más frecuentemente. Por otro lado, manifestaciones clínicas como mialgias se presentan más en población urbana con lupus (Pons-Estel et al., 2012).

A pesar de que el lupus eritematoso sistémico afecta más a mujeres en edad fértil que a hombres (en proporción de 9:1) (Ghodke-Puranik & Niewolld, 2015), la enfermedad es más

severa en estos últimos, con secuelas más graves (incluyendo fallo renal, infarto del miocardio y la muerte), a consecuencia de la diferencia de vías de señalización hormonales en la expresión de la enfermedad (Agmon-Levin et al., 2012). Otro indicador de la importancia de estas vías de señalización es que en el lupus pediátrico y en aquel cuya edad de inicio es avanzada, la diferencia en la prevalencia según el género del paciente no es tan pronunciada (O'Neill & Cervera, 2010).

1.4. Etiopatogenia del Lupus Eritematoso Sistémico

1.4.1. Factores ambientales y genéticos asociados a Lupus Eritematoso Sistémico

El Lupus Eritematoso Sistémico es una enfermedad compleja, con una presentación clínica variable. No se conocen de manera completa aún las causas de la enfermedad, pero dependiendo de los factores genéticos, ambientales y hormonales involucrados los que contribuyen a esta variabilidad clínica característica del LES, donde cada uno requerirá un tratamiento distinto (Agmon-Levin et al., 2012).

Al inicio del curso de la enfermedad, los factores genéticos parecen tener una importante contribución en los periodos de actividad; a medida que el lupus se desarrolla, son los factores socioeconómicos, como el grado de acceso a servicios médicos, que comienzan a jugar un papel más importante (González et al., 2013).

Las bases genéticas de las enfermedades complejas se pueden explicar en dos hipótesis. La hipótesis de "Enfermedad Común, Variante Común", o CDCV, sostiene que las enfermedades comunes son causadas por variantes genéticas comunes en la población (frecuencia del alelo menor > 1%), cada una de las cuales tiene un efecto pequeño o modesto. Mientras tanto, la hipótesis alternativa de enfermedad común, variante rara (CDRV) propone que para rasgos complejos existe una heterogeneidad alélica extrema, de forma que la etiología de la enfermedad es causada de manera colectiva por múltiples variantes raras con penetrancia moderada o alta. Un análisis de los datos recolectados en el proyecto HapMap sugieren que es más probable que sean las variantes raras las que predisponen a alguna enfermedad en vez de las variantes comunes. A pesar de la evidencia que apoya a ambas hipótesis, probablemente un modelo más realista para estas afecciones complejas es que las variantes funcionales tienen un espectro amplio de frecuencias

alélicas, que van de raras a comunes incluso dentro del mismo gen susceptible (Iyengar & Elston, 2007; Li & Leal, 2008).

Una historia familiar de lupus eritematoso sistémico u otra enfermedad autoinmune relacionada incrementa drásticamente el riesgo de padecer de esta patología (con una agregación familiar del 10-20%), por ejemplo, los hermanos de pacientes con lupus tienen un mayor riesgo relativo de desarrollar la enfermedad (Ghodke-Puranik & Niewolld, 2015), considerándose una heredabilidad de LES de aproximadamente 66% (Guerra et al., 2012). Sin embargo, la penetrancia modesta de los factores de riesgo genético (Parks et al., 2017), y la concordancia del 24-56% y 2-4% en pares de gemelos monocigóticos y dicigóticos, respectivamente, evidencian que los factores ambientales tienen un papel importante en el curso de la enfermedad (Guerra et al., 2012; O'Neill & Cervera, 2010; Velázquez-Cruz et al., 2012). Existe evidencia que indica que estos factores ambientales son capaces de modificar la expresión genética de las células T a través de mecanismos epigenéticos como la metilación y la modificación de histonas (Mak & Tay, 2014), lo que resulta en células T autorreactivas capaces de promover la autoinmunidad, en particular, la hipometilación anormal de varios genes en las células T CD4+ está asociada a la autorreactividad de estas *in vitro* y a la autoinmunidad *in vivo* (Sawalha & Richardson, 2006).

Los factores ambientales asociados al inicio de LES incluyen solventes, pesticidas, sílice, contaminación del aire, luz solar y vitamina D, hormonas, e infecciones y el microbioma del individuo (Parks et al., 2017). El consumo de anticonceptivos orales durante más de un año puede incrementar dos veces el riesgo de padecer la enfermedad, mientras que el consumo de isoniazida, alfametildopa o carbamazepina aumenta cinco veces el riesgo de LES (Zonana-Nacach et al., 2002). La luz ultravioleta (UV-A1 y UV-B) es capaz de inducir picos de actividad en pacientes con LES, además de disparar el inicio de la enfermedad. Sin embargo, este efecto parece ser dependiente de la dosis de luz UV recibida (Mak & Tay, 2014). A pesar de que la luz UV impacta en el grado de actividad de LES, este también se dispara en pacientes con deficiencia de vitamina D, a pesar de que no se puede afirmar que administrar vitamina D para suplementar esta deficiencia disminuye la actividad de LES (Petri et al., 2013).

La exposición a algunos agentes químicos (tanto por su uso cotidiano como por la exposición laboral a ellos) está relacionada a un mayor riesgo a padecer LES. El sílice, un adyuvante, está asociado como factor de riesgo para LES al inducir la producción de IL-1 y el factor de necrosis tumoral α (Mak & Tay, 2014). Los bifenilos policlorados y

dibenzofuranos también están asociados al desarrollo de esta enfermedad; el mercurio orgánico y elemental inducen la formación de anticuerpos anti-nucleares, mientras que su forma inorgánica y metilada inducen el estrés oxidativo en células T al agotar antioxidantes con tiol y el glutatión, llevando a la producción de ROS y el incremento de la apoptosis (Mak & Tay, 2014).

Existen estudios que proponen que el uso de cosméticos como labiales puede incrementar el riesgo a padecer LES, por los químicos contenidos: la eosina, un colorante que está implicado en la fotosensibilidad y picos de actividad de lupus; el ftalato puede inducir respuestas de anticuerpos anti-ADN y síndromes similares a LES en ratones. La presencia de estos componentes en cosméticos que se aplican en los labios pudiera conferir un potencial único de incrementar el riesgo de exposición a través de la ingestión oral y proximidad a la mucosa bucal (con una alta capacidad de absorción) (Wang et al., 2008).

Un estudio realizado en mujeres estadounidenses encontró que el riesgo de LES incrementa al doble para fumadoras activas, en comparación con mujeres no fumadoras. Este estudio demostró además una reducción significativa en el riesgo de esta clase de LES para fumadoras que habían dejado de fumar hacía más de cinco años (Barbhaiya et al., 2018). En un meta-análisis sugirió que el consumo moderado de alcohol provee un efecto protector significativo contra LES, en pacientes que habían sido tratados para esta enfermedad menos de diez años (Wang et al., 2008), a pesar de que es difícil dilucidar el efecto del alcohol puesto que muchas veces se consume en conjunto con el tabaco.

Otra categoría de factores ambientales que están asociados a la presentación de LES son algunas infecciones bacterianas, parasitarias, fúngicas y virales. Existen algunos virus y bacterias que pueden producir superantígenos que por medio de mecanismos como efectos adyuvantes y mimetismo molecular inducen la activación de linfocitos autorreactivos T y B. Por ejemplo, las partículas virales en los linfocitos B infectados estimulan la producción de anticuerpos y citocinas como IFN- α , contribuyendo a la generación y perpetuación de procesos inflamatorios y autoinmunes. Con más exactitud, infecciones del virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus linfotrópico de células T humanas y el parvovirus B19 se han asociado a la patogénesis de LES (Valencia et al., 2017). Hay estudios que demuestran que títulos altos de rubéola se asocian a manifestaciones neurológicas de LES, como psicosis o depresión, mientras que un alto nivel de anticuerpos del virus de Epstein-Barr están correlacionados a manifestaciones en las articulaciones y piel (Agmon-Levin et al., 2012).

En una población maya de mujeres mexicanas se reporta una asociación de la infección de virus PV-19 con LES. En este estudio se detectaron anticuerpos IgM contra VP1 en pacientes con LES confirmado con actividad de la enfermedad (SLEDAI > 5), con un promedio de 9.8 años con la enfermedad. Aunque los niveles de IgM en las pacientes no difirieron de los controles, y no mostraron correlación con la actividad de la enfermedad (posiblemente por la duración de la enfermedad y por el tratamiento contra LES), los datos muestran que la infección de parvovirus era reciente, sugiriendo que era la causante de la reactivación de la actividad de LES (Valencia et al., 2017).

Otras infecciones, como la del virus de Hepatitis B, da un efecto protector contra el LES, a pesar de predisponer a otras enfermedades inmunes. El efecto protector contra LES que confieren algunas infecciones podría explicar el hecho de que aunque las personas con ascendencia africana presentan esta enfermedad en mayor proporción que la población caucásica, la prevalencia de LES en África es baja, considerando su correlación con la presencia de agentes infecciosos que causan malaria, y sabiendo que *Plasmodium berghei*, parásito causante de esta enfermedad (Kivity et al., 2009). En la categoría de infecciones con un efecto de protección se encuentra también la infección con *Helicobacter pylori*, bacteria que está asociada a enfermedades gastrointestinales como el cáncer gástrico. En un modelo murino, se demostró que la ureasa producida por *H. pylori* puede inducir la producción de anticuerpos anti-ADNdc, moléculas relacionadas a LES. A pesar de esto, se encontró que en mujeres afroamericanas con LES la presencia de la bacteria estaba relacionada a un inicio más tardío de la enfermedad que en aquellas pacientes que no estaban infectadas con *H. pylori* sin embargo, no se ha encontrado una explicación satisfactoria para este aparente efecto protector (Hasni et al., 2011).

Algunos medicamentos se encuentran asociados a LES como factores ambientales. Por ejemplo, los fármacos anti-malaria tienen un efecto protector contra la aparición subsecuente de manifestaciones hematológicas como linfopenia durante el curso de la enfermedad, lo que se encuentra probablemente relacionado a su efecto en la actividad de la enfermedad, pues este tipo de fármaco logra reducir los picos de actividad y retrasar la acumulación de daño. Un efecto importante de los medicamentos anti-malaria es la inhibición de la activación de receptores tipo Toll (TLR), particularmente TLR9 y TLR7, que resulta en un perfil de citocinas proinflamatorias disminuido, que tiene como efecto una reducción en la presentación de antígenos. Entre estos fármacos, la disminución en la actividad de LES en respuesta a una terapia con hidroxiclороquina se correlaciona con la

reducción en la producción del IFN- α , lo que sugiere la importancia de inhibir la activación endógena de los TLR. Por otro lado, la terapia con azatioprinas está relacionada de manera negativa con la linfopenia, lo que sugiere una alta efectividad de este fármaco en la actividad del LES si se utiliza como terapia de mantenimiento después de la remisión de manifestaciones severas del lupus (González-Naranjo et al., 2016).

Hay estudios de asociación de genoma completo (GWAS del inglés Genome Wide Association Study) que muestran una gran variedad de loci implicados en la patogénesis del lupus eritematoso sistémico, habiéndose identificado por lo menos 90 (Goulielmos et al., 2018). Se destacan sobre todo los que se encuentran dentro de los genes que codifican al complejo principal de histocompatibilidad (HLA), mientras que otros loci están localizados dentro o cerca de genes con relevancia funcional en el sistema inmune (Deng & Tsao, 2010; Ghodke-Puranik & Niewolld, 2015). Muchos de ellos se asocian a vías pertinentes a la activación de células B y T, o a la señalización de receptores innatos, como la activación de TLR (Wahren-Herlenius & Dörner, 2013). De manera significativa y consistente, hay asociaciones con IRF5, STAT4, PTPN22, C8Orf13-BLK, TNFSF4, TNFAIP3, PRDM1-ATG5, ITGAM-ITGAX (Wahren-Herlenius & Dörner, 2013). De estas, IRF5 (El factor 5 regulatorio de interferón, que es un factor de transcripción involucrado en la regulación de la expresión de citocinas proinflamatorias) es especialmente notoria porque es donde se encuentra la asociación a LES más robusta, además de presentarse fuertemente asociada en poblaciones latinoamericanas (Teruel & Alarcón-Riquelme, 2016).

Se sabe, por estudios de expresión genética, que en pacientes con LES, los genes asociados a la vía del interferón se encuentran sobre-expresados, en comparación con controles sanos (Goulielmos et al., 2018). Las personas con deficiencias homocigóticas de los primeros componentes del complemento tienen un mayor riesgo de desarrollar LES. Las deficiencias asociadas a LES de manera más notoria son la de C1q (93%), C1r/C1s (57%), C4 (75%) y C2 (10%) (Reilly et al., 2016).

Se ha encontrado también que el gen MECP2, en el cromosoma X, está asociado a LES. Este gen codifica la proteína de unión a metil-CpG 2, que juega un papel clave en la regulación epigenética transcripcional de genes susceptibles a la metilación. La asociación del cromosoma X a la enfermedad puede explicar el que los hombres con síndrome de Klinefelter (XXY, 47) tengan un riesgo de padecer LES similar a mujeres (XX, 46) (Sawalha et al., 2008).

1.4.2. Desarrollo de la enfermedad

El consenso general es que el lupus eritematoso sistémico progresa siguiendo una serie de fases, a lo largo de un periodo de tiempo que se puede extender por años. Antes de que se presenten los signos clínicos de LES existe un periodo de predisposición que suele ser muy largo, en donde influye la susceptibilidad genética del paciente, su sexo y estímulos ambientales que propicien las respuestas inmunes. La aparición de autoanticuerpos es provocada por este conjunto de factores, y es sobre todo estimulada por procesos de muerte celular como la apoptosis, la necrosis (que libera componentes celulares que podrían generar neoantígenos gracias a su oxidación, fosforilación y escisión), además de la presencia de microorganismos con secuencias antigénicas que reaccionan junto a los antígenos humanos (Gualtierotti et al., 2010).

Los autoanticuerpos inducen la primera fase de la presentación clínica de LES (inflamación en órganos, articulaciones, piel, glomérulos, destrucción de plaquetas, etc.) porque los anticuerpos y los complejos inmunes que forman en membranas basales o en las superficies celulares persisten, activando al sistema del complemento, además de que sus números son cuantitativamente altos (Hahn, 2012).

Sin embargo, la generación de autoanticuerpos (a pesar de ser necesaria), no es suficiente para que comience la enfermedad. Para que ocurra la inflamación y el daño de órganos severo posterior a la generación de los autoanticuerpos, debe activarse el complemento y otros mediadores de la inflamación, además de que se necesita una serie de eventos que incluye la quimiotaxis de linfocitos y células fagocíticas mononucleares, la liberación de citocinas, quimiocinas y enzimas proteolíticas, igual que el daño oxidativo (Hahn, 2012).

Los autoanticuerpos surgen en una jerarquía temporal: los anticuerpos antinucleares (ANAs) aparecen primero, seguidos de los anti-ADNdc y los anti-fosfolípidos y finalmente, los anti-Sm y anti-ribonucleoproteínas. El periodo tan prolongado de generación de anticuerpos implica que estos autoanticuerpos potencialmente patogénicos puedan inmunoregularse durante cierto periodo de tiempo, y es solo en los individuos donde la regulación deja de funcionar que la enfermedad aparece. Cuando falla la regulación de estos, comienzan a ocurrir fallas en los linfocitos T y B que llevan al desarrollo de los signos clínicos de la enfermedad, para que finalmente ocurra la inflamación crónica y el daño oxidativo (Gualtierotti et al., 2010).

No todos los anticuerpos ocasionarán el mismo daño al organismo. Por ejemplo, hay anticuerpos anti-*N*-metil-aspartato que están dirigidos a las neuronas, y provocan muerte neuronal, mientras que anticuerpos que tienen como blanco moléculas en eritrocitos o plaquetas causarán la fagocitosis y destrucción de estas células; anticuerpos anti-Ro/La provocan defectos en la conducción cardíaca, mientras que los anticuerpos anti-fosfolípidos son capaces de propiciar abortos espontáneos en ratones y humanos (Hahn, 2012).

Los autoanticuerpos generados formarán complejos inmunes que quedan atrapados en el tejido y que evitan su eliminación por parte de las células fagocíticas mononucleares. Cuando existe LES, existe además una característica deficiencia de la eliminación de estos IC, que está ligada a su persistencia y exacerba tanto su cantidad como sus propiedades potencialmente dañinas (Hahn, 2012). La falla en la regulación de los autoanticuerpos generados por parte de defectos en los linfocitos B y T genera la inflamación crónica y el daño oxidativo característicos de la enfermedad (Gaultierotti et al., 2010).

1.5. Lupus Eritematoso Sistémico Pediátrico

El lupus en la niñez se diagnostica con una edad promedio de 12.2 años (Olmos-García et al., 2014). Para que se pueda definir como lupus eritematoso sistémico pediátrico, la edad máxima de diagnóstico es de 16 años (Mina & Brunner, 2009).

La frecuencia de presentación del lupus eritematoso sistémico en la niñez no es tan distinta en mujeres y hombres, en proporción de 4:3 en la primera década de vida y 4:1 en la segunda (Mina & Brunner, 2009), a diferencia de lo que ocurre cuando la enfermedad inicia en edad adulta, donde hay una proporción 9:7 (Petri, 2008).

En la enfermedad de inicio adulto hay influencia de las hormonas sexuales, como los andrógenos y el estrógeno, donde los andrógenos brindan un efecto protector contra la enfermedad y los estrógenos al contrario. Esto sucede porque las hormonas sexuales tienen efectos moduladores sobre el sistema inmune. El estrógeno reduce la apoptosis, promueve la persistencia de las células B autorreactivas y aumenta la expresión de múltiples genes que están involucrados en la activación y supervivencia, de las células B, tales como CD22, SHP-1, BCL-2 y VCAM-1 (molécula de adhesión celular vascular).

Cuando existe lupus, el estrógeno inhibe la apoptosis de las células T lúpicas al disminuir la expresión del ligando Fas, logrando así la supervivencia prolongada de estas células T autorreactivas, además, el estrógeno logra reducir el nivel de TNF- α y activa las células

dendríticas (Chan & Mok, 2013; Petri, 2008). En general, los pacientes –hombres y mujeres– con lupus tienen un nivel más bajo de andrógenos, y se ha comprobado que la terapia con DHEA logra estabilizar e incluso mejorar el LES, llevando a menos picos de actividad (Petri, 2008). Por otro lado, en el lupus eritematoso sistémico pediátrico, se cree que el componente genético de la enfermedad podría tener más peso (Olmos-García et al., 2014).

Los pacientes en edad pediátrica que cursan con LES suelen presentar síntomas no específicos, y a pesar de que la incidencia de la enfermedad en estos pacientes es baja, hay afectaciones renales más severas y con mayor frecuencia que en pacientes adultos; por ejemplo, alrededor del 70% de pacientes pediátricos de lupus presentan nefritis lúpica de inicio temprano (Youssef et al., 2015). Además, se calcula que entre el 10 y 20% de los casos con lupus eritematoso sistémico son de inicio pediátrico (Pavón-Sánchez & Sánchez-Sánchez, 2013). En general, los pacientes con LES pediátrico tienen un curso de la enfermedad más largo y con una tasa de mortalidad más alta que los pacientes con LES adulto (Chiang et al., 2018). En el LES pediátrico, la presencia de anticuerpos antifosfolípidos y la anemia hemolítica incrementan el riesgo de muerte de forma más severa que en los pacientes adultos (Joo et al., 2016).

Un estudio epidemiológico publicado en agosto de 2018 sobre el lupus pediátrico en América Latina señala que las manifestaciones clínicas más frecuentes de estos pacientes (en orden descendente) eran la nefritis, afectaciones dérmicas, manifestaciones hematológicas, manifestaciones musculoesqueléticas, fiebre, serositis, manifestaciones neuropsiquiátricas, el fenómeno de Raynaud, manifestaciones pulmonares, afecciones gastrointestinales y oculares. De las anteriores, son las manifestaciones renales, hematológicas, oculares y epilepsias más severas en el lupus pediátrico que en el LES de edad adulta (Ferreira et al., 2018).

Los resultados de este estudio se corroboran con otro realizado en una cohorte coreana donde se comparó el lupus eritematoso sistémico pediátrico a la misma enfermedad diagnosticada ya en edad adulta, que descubrió que síntomas como erupciones, fotosensibilidad, manifestaciones renales y anemia hemolítica, se presentan de manera más frecuente en el LES infantil, mientras que la artritis y la leucopenia son más frecuentes en el LES adulto (Joo et al., 2016).

Se debe considerar que la cohorte coreana presenta una alta homogeneidad en la ancestría de sus pacientes. Un tercer estudio, realizado con los resultados de la cohorte GLADEL, considera la heterogeneidad étnica de la población latinoamericana, y después de dividir a los pacientes en cuatro grandes grupos (blancos, amerindios, mestizos y latino-africanos), no encuentra diferencias entre la presentación de la enfermedad en estos grupos (Ramírez et al., 2008).

Es también frecuente que los pacientes de LES pediátrico sufran comorbilidades psicológicas como depresión, sobre todo asociadas al tratamiento con esteroides para la enfermedad (Chiang et al., 2018).

El estudio de la cohorte coreana encontró además que en el LES pediátrico se encuentran con más frecuencia anticuerpos anti-ADN de doble cadena y antifosfolípidos que en el LES de edad adulta, mientras que el anticuerpo anti-Ro es menos frecuente (Joo et al., 2016). El estudio GLADEL encontró que los criterios ACR que los pacientes con LES pediátrico en Latinoamérica cumplían con mayor frecuencia era la presencia de anticuerpos antinucleares, los criterios hematológicos y la artritis (Ramírez et al., 2008)

1.6. El papel de la mitocondria en la patogenia del Lupus Eritematoso Sistémico

Aunque los mecanismos moleculares que dan origen a LES no están completamente esclarecidos, existen hipótesis que colocan a este orgánulo al centro de la patogénesis de la enfermedad, sobre todo a través del estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial; a través del aumento de la generación de ROS, incremento del potencial transmembranal de la mitocondria, reducción en la generación de ATP y aumento de la masa mitocondrial (West & Shadel, 2017). La tabla 2 resume las respuestas inflamatorias producidas por mecanismos moleculares asociados a LES.

Estos defectos en vías de señalización mitocondriales están relacionados a la activación mitocondrial de la apoptosis y la proliferación de linfocitos periféricos, circunstancias que junto a la acumulación anormal de ADNmt por la depuración ineficiente de ICs, fuertes respuestas interferogénicas, cantidades elevadas de óxido nítrico mitocondrial, y la

activación de la vía mTOR contribuyen a generar un ambiente proinflamatorio (Boyapati et al., 2017; Gergely et al., 2000; West et al., 2011).

Además de la importancia que tiene la mitocondria como conjunto en la autoinmunidad, el ADN mitocondrial tiene una función importante en la patogénesis del Lupus Eritematoso Sistémico, a través de algunas vías de señalización de estrés como las trampas extracelulares de neutrófilos (NET) con complejos de ADN mitocondrial oxidado/TFAM, y el mismo ADN mitocondrial oxidado liberado por neutrófilos así como las vías de señalización RAGE/TLR9, cGAS/STING y TLR9 a través de las células dendríticas plasmacitoides (pDC) (West & Shadel, 2017).

A diferencia del ADN nuclear, el ADN mitocondrial es más susceptible a modificaciones y daños de tipo oxidativo, por la falta de estructuras cromatínicas, protección de las histonas, además de un sistema de reparación ineficiente. Lo anterior provoca que el ADN mitocondrial sea vulnerable a modificaciones causadas por especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, haciéndolo más reconocible a los anticuerpos anti-ADNmt (Al-Shobaili & Rasheed, 2013). Además, el daño al ADNmt está asociado a la actividad del LES, y entre más daño sistémico haya, menor será la cantidad de ADNmt en el paciente (López-López et al., 2014). Sin embargo, los pacientes con lupus suelen tener NETs enriquecidas con ADNmt oxidado, y se plantea que esto sucede por la migración de la mitocondria hacia el extremo de la célula justo antes de que inicie la liberación de NETs (Muller & Radic, 2016).

Normalmente, el ADNmt se encuentra oculto de los PRRs del sistema inmune. Sin embargo, al ocurrir alguna infección, lesión, o cuando existe estrés celular con daño a la membrana o con ruptura de la mitocondria, esta molécula se libera, quedando expuesta como una señal de peligro poderosa para los mecanismos innatos de defensa, como el receptor tipo Toll 9 (TLR9) e inflamasomas citosólicos como NLRP3, actuando como un DAMP de manera que llega a modular de manera directa la respuesta inflamatoria del cuerpo, a través de la acción del interferón tipo I (IFN-I) (West & Shadel, 2017; West et al., 2011). TLR9 es capaz de detectar ácidos nucleicos a través de motivos CpG hipometilados en estos. Al detectar estas moléculas, TLR9, que se localiza en el retículo endoplásmico de la célula, se transloca hacia los endosomas para actuar a través de MYD88, que activa a las MAPKs y a NF-κB para disparar respuestas inmunes, aumentando la producción de mediadores proinflamatorios como TNF e IL6; o bien puede actuar a través de IRF7, que ayuda a las células dendríticas a aumentar sus respuestas IFN-I (West & Shadel, 2017).

A pesar de que aún no se conoce cómo entra el ADNmt en contacto con TLR9, se postulan varias hipótesis. En primer lugar, que sea a través de la fagocitosis de mitocondrias completas tras la necroptosis por macrófagos derivados de monocitos. Es también posible que la unión del ADNmt a co-factores adicionales como al receptor para productos finales de glicación avanzada (RAGE) facilite su internalización a las células inmunes. La existencia de complejos HMGB1-CpG resulta en la asociación de TLR9 con RAGE y el reclutamiento de MyD88 en las células B. Otra hipótesis es que la activación de células B autorreactivas por ADN CpG ocurre después de su interacción con el receptor del linfocito B, lo que resulta en la transferencia de ADN CpG al TLR9 endosómico (Boyapati et al., 2017).

La forma oxidada del ADNmt confiere a la molécula su potencial inflamotogénico. Gracias a las mtROS se incrementa no solo el proceso de oxidación, sino que también la traslocación citosólica del mtDNA oxidado que se podrá unir directamente al inflamasoma NLRP3. La activación de NLRP3 provoca entonces una especie de retroalimentación positiva, incrementando aún más la liberación de ADNmt (Boyapati et al., 2017). El mtDNA oxidado también es capaz de activar los inflamasomas, los cuales son complejos proteicos con tres componentes: una proteína sensor especializada, una proteína Speck-like asociada a apoptosis con una molécula adaptador con un dominio C-terminal de reclutamiento de caspasas (ASC) y caspasa-1 (Rongvaux, 2018).

Estos compuestos actúan como blancos para el ADNmt, resultando en el corte y activación de caspasa-1 y la maduración proteolítica de IL-1 β y IL-18, además de que niveles altos de especies reactivas de oxígeno mitocondriales se correlacionan con una mayor secreción de IL-1 β (Boyapati et al., 2017). Al ser activados los inflamasomas, se activa como consecuencia la piroptosis, un tipo de muerte celular rápida y pro-inflamatoria (Latz et al., 2013).

STING es una proteína del citoplasma que se encuentra anclada al retículo endoplásmico, y que es activada ya sea por la asociación directa con ADN de doble cadena o por dinucleótidos cíclicos, que se derivan de bacterias o virus intracelulares producidos por un sensor de ADN, la cGAMP sintasa (cGAS) (Boyapati et al., 2017). La activación de la vía cGAS/STING se da al producir estrés mitocondrial o permeabilización de la membrana mitocondrial, haciendo que el ADNmt salga de este orgánulo y pueda interactuar con cGAS, lo que lleva a la activación de una respuesta inflamatoria mediada por IFN-1, además de activar la vía del NF κ B (Boyapati et al., 2017; Rongvaux, 2018).

Existen otras alteraciones mitocondriales que coadyuvan al desarrollo de la enfermedad, como la reducción de la actividad enzimática de los complejos I, II y V de la cadena de transporte de electrones. Esto lleva a una producción incrementada de ROS, disminución del ATP producido y aumento de la apoptosis por vía de la liberación del citocromo c y la activación de la caspasa 3 (Leishangthem et al., 2016).

El agotamiento de glutatión intracelular está relacionado con el lupus, mediante la alteración del estado redox en pacientes con lupus, lo que resulta crítico para la disfunción inmune intracelular, la activación de enzimas apoptóticas y la progresión de la apoptosis, proceso de muerte celular que se encuentra elevado en LES, junto con la necrosis (Shah et al., 2013).

Tabla 2. Respuestas inflamatorias dependientes de ADNmt en el Lupus Eritematoso Sistémico.
Tomado de (West & Shadel, 2017).

Vía de señalización de estrés de ADNmt	Fenotipo inflamatorio reportado
<ul style="list-style-type: none"> ● Extrusión neutrofílica de complejos de ADNmt oxidado/TFAM ● Señalización RAGE-TLR9 	<ul style="list-style-type: none"> ● Nivel incrementado de ADNmt oxidado en los neutrófilos del paciente con lupus ● Activación de células dendríticas plasmacitoides y la secreción de IFN tipo I
<ul style="list-style-type: none"> ● ADNmt oxidado liberado de neutrófilos ● Señalización cGAS-STING ● Señalización TLR9 	<ul style="list-style-type: none"> ● Los complejos proteicos de ribonucleoproteínas en el LES inducen la formación de mtROS y NETs ● Las NETs en el LES contienen más ADNmt, conduciendo a la formación de autoanticuerpos anti-ADNmt, contribuyendo a la nefritis lúpica. ● El ADNmt en las NET dispara la expresión y secreción de citocinas pro-inflamatorias, IFN tipo I, y ISG. ● Las moléculas <i>scavengers</i> de mROS disminuyen la formación de NETs y la enfermedad lúpica.

De manera más reciente, se han encontrado asociaciones entre variantes en la secuencia genómica mitocondrial y la susceptibilidad al Lupus Eritematoso Sistémico. Un estudio de 2009 que buscaba asociación con Lupus Eritematoso Sistémico de marcadores

mitocondriales y haplotipos mitocondriales que ya habían sido positivos para esclerosis múltiple encontró una asociación positiva con nt9055, perteneciente a la secuencia de ATP6, que codifica para una subunidad del complejo V, mientras que otra variante, nt4917 dentro del gen ND2, que codifica para una subunidad del complejo I, requeriría de un estudio con una cohorte más grande para verificar la significancia de la asociación (Vyshkina et al., 2008). nt9055 (rs193303045) es una variante con cambio de sentido que implica una transición de guanina a adenina, haciendo que el aminoácido que está codificado por su codón cambie de alanina a treonina (Perl, 2010); esta variante está implicada en LES y en esclerosis múltiple (en una población caucásica americana) (Kozin et al., 2018) y en una vida más longeva (en población francesa caucásica) (Ivanova et al., 1998).

La susceptibilidad del ADNmt a los daños oxidativos se ven principalmente reflejados en la región no codificante D-loop, una región regulatoria de la replicación y la transcripción del ADN mitocondrial. En pacientes con lupus, se encuentra un menor número de copias de DNA mitocondrial y un aumento en la heteroplasmia de la región D310 del D-loop a medida que ocurren los periodos de actividad en el curso de la enfermedad, por lo que se puede considerar un buen biomarcador para evaluar la progresión de LES, puesto que un puntaje SLEDAI más alto se correlaciona con mayor heteroplasmia de la región D310. Además, una mayor variación en D310 se asocia a una frecuencia más alta de nefritis lúpica, haciendo que el estudio de esta región del genoma mitocondrial pueda ayudar a predecir la susceptibilidad de un paciente a padecer esta complicación. Es relevante mencionar que hay variantes en esta misma región que están asociadas a cáncer, enfermedades degenerativas y hereditarias (Lee et al., 2012).

Incluso se ha definido que el haplotipo mitocondrial N, presente en la etnia Han (China) está asociado al lupus eritematoso sistémico, sobre todo en pacientes donde la enfermedad inició después de los cincuenta años (Tang et al., 2015). Se presume que esta asociación ocurre por la interacción de factores ambientales y SNVs como 8701 A/G, donde una mutación puede reducir la producción de ATP e inducir a la apoptosis (Tang et al., 2015); Una mutación G→A en el SNP 10398 A/G, que también presentó asociación positiva, provoca un cambio en la subunidad ND3 del complejo mitocondrial I, aumentando la producción de especies reactivas de oxígeno, causando inflamación por la excitación del sistema inmune (Jönsen et al., 2009).

En pacientes europeos con haplotipos I, J y K, se encontró una asociación débil entre el SNP 16189C (previamente asociado a la resistencia a la insulina y susceptibilidad a diabetes tipo 2) y el lupus eritematoso sistémico. Este SNP se encuentra dentro de la región D-loop, previamente mencionada por la asociación de D310 con el LES. Se encontró también asociación a la susceptibilidad de lupus en pacientes masculinos con el SNP 13708A. Este SNP está localizado dentro de otra subunidad del complejo I mitocondrial, la región ND5 (Jönsen et al., 2009).

Otro estudio de 2009 en un modelo murino determinó que la variante de ADNmt nt7778 G/T, que resulta en una sustitución conservativa de aminoácido, confiere riesgo incrementado de padecer enfermedades autoinmunes (Yu et al., 2009).

2. La mitocondria y su genoma

La mitocondria es un orgánulo celular, encargado de llevar a cabo la fosforilación oxidativa, proceso donde ocurre la síntesis de ATP, que necesita de los protones obtenidos como producto de la cadena de transporte de electrones, misma también sucede como parte de la fosforilación oxidativa. Con un tamaño de entre 0.5 a 1 μm y una doble membrana, su cantidad dentro de la célula depende del tipo celular y de las necesidades energéticas de estas: por ejemplo, se encuentran ausentes en los eritrocitos, mientras que en ovocitos maduros hay alrededor de 200 mil mitocondrias. (Adhikari et al., 2022; Alberts, 2022; Ney, 2011; Verma & Kumar, 2007). Las mitocondrias son organelos interconectados entre sí, que se transmiten información a través del contacto físico o mediante señales químicas, dentro del ambiente en común que es el citoplasma celular, para así responder de manera conjunta a estímulos, o especializarse dentro de la célula (Picard & Sandi, 2021).

Una de las principales funciones de la mitocondria es la producción de ATP mediante la fosforilación oxidativa, para así apoyar a la respiración aerobia (Tuppen et al., 2009), sin embargo, esta no es su única función. La mitocondria está altamente involucrada en otros procesos biológicos como la termogénesis, apoptosis celular, almacenamiento, señalización y homeostasis del calcio, así como en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Dowling, 2014), además de participar en la síntesis de colesterol, la oxidación de ácidos grasos, detoxificación de amonio (Mitchell et al., 2014), y la biogénesis de proteínas hierro-azufre (Tuppen et al., 2009).

El origen de la mitocondria se explica con la teoría endosimbiótica, la cual postula que estos orgánulos iniciaron como proteobacterias que fueron engullidas por un proto-eucarionte, o bien fueron la evolución de una relación simbiótica entre dos procariontes, donde uno terminó por convertirse en el núcleo y el otro en la mitocondria de la célula eucariota como la conocemos hoy día (Martin, 2010). De cualquier manera, en este proceso evolutivo se perdió el 99% del ADN de este procarionte, mientras que el aparato de traducción de este cambió para que pudiera utilizar una forma modificada del código genético universal para traducir los RNA mensajeros que restaban en lo que ahora se conoce como ADN mitocondrial (Schon, 2015).

En el genoma mitocondrial hay pistas del origen bacteriano de este orgánulo. Por ejemplo, su iniciador de la síntesis proteica, es el mismo que el de las bacterias, el N-formilmethionil-tRNA (Taanman, 1999). Además, los genes en la mitocondria no poseen intrones (al igual que las bacterias, y el genoma mitocondrial prácticamente no posee nucleótidos intergénicos no codificantes, excepto por el D-loop (bucle D o bucle de desplazamiento), que contiene promotores de transcripción y por lo menos un origen de replicación (Tuppen et al., 2009), además de esto, el ADNmt se replica de manera autónoma, independiente a la replicación del ADN nuclear (Rongvaux, 2018). La mitocondria es un orgánulo con doble membrana dentro de la célula, y esta doble membrana está compuesta de lípidos como la cardiolipina, presente en organismos procariontes y notoriamente ausente en otras membranas eucarióticas (Rongvaux, 2018). De manera similar al ADN bacteriano, el ADNmt se compacta en forma de nucleoide con un diámetro aproximado de 100 nm. Este nucleoide posee una amplia variedad de proteínas con funciones igualmente diversas, que van desde el empaquetamiento de ADN, transcripción, hasta factores de señalización que facilitan la integración del ADNmt en redes de señalización celular cruciales para el metabolismo y la proliferación (Gilkerson et al., 2013).

El ADN mitocondrial humano se compone de una doble cadena circular de 16,569 pares de bases, con replicación autónoma (Anderson et al., 1981) y contiene información para 37 genes, de los cuales 13 codifican proteínas de la cadena respiratoria (Dowling, 2014), mientras que el resto son 22 ARN de transferencia y dos ARN ribosomales (Schapira, 2006).

El ADNmt es heredado por vía materna (Lee et al., 2012) por mecanismos como la ubiquitinización selectiva de la copia paterna, un efecto de dilución (los espermatozoides contienen sólo alrededor de 100 copias de ADNmt paterno en comparación con las 100 000 en el óvulo sin fertilizar, y el efecto del cuello de botella del ADN mitocondrial, que excluye

a las copias paternas por estar en menor proporción) (Chinnery & Hudson, 2013). Esta forma de herencia, y el que el ADNmt se conserve mejor después de la muerte que el ADN nuclear hacen a esta molécula útil para análisis forenses, estudios de antropología, migraciones e investigaciones biogeográficas (Vissing, 2019).

El ADNmt tiene una tasa de mutación mucho más alta en comparación con el ADN nuclear, por motivos que incluyen la proximidad del ADN mitocondrial a especies reactivas de oxígeno mutagénicas; la continua replicación de este ácido nucleico en células post-mitóticas, con una tasa de error de varios órdenes de magnitud más alta que en el núcleo; y un conjunto de mecanismos de reparación de ADN menos extenso que en el núcleo celular (Burr et al., 2018).

La variación genética en el ADN mitocondrial humano ha ido acumulándose secuencialmente a lo largo de miles de años a través del linaje materno de cada población, por lo que se puede considerar que este tiene un registro molecular de las migraciones humanas, y se puede trazar hasta una única mujer que vivió en África hace unos 200 000 años, llamada “Eva mitocondrial”. Gracias a estudios filogeográficos se lograron identificar polimorfismos que describen genotipos específicos de ciertos continentes, llamados haplogrupos, que son conjuntos de haplotipos similares que evolucionaron del mismo ancestro con una mutación particular de un SNP, para determinar árboles de haplogrupos de ADNmt y la ruta de migración de ADNmt (Arora et al., 2015; Lencó et al., 2011).

Esta tasa tan alta de mutaciones en la mitocondria hace que el proceso de diferenciación molecular sea relativamente rápido. Además, al haber ocurrido principalmente durante y después la dispersión de la población humana a distintas partes del mundo, los haplogrupos suelen estar restringidos a ciertas áreas geográficas y, por tanto, a poblaciones en específico (Lencó et al., 2011).

Por ejemplo, la población nativoamericana posee de manera predominante cuatro haplogrupos, A2, B2, C1 y D1, que descienden de haplogrupos asiáticos producto de las grandes migraciones humanas (Achilli et al., 2008). La figura 1 muestra la distribución mundial de haplogrupos, mostrando su distribución por continente.

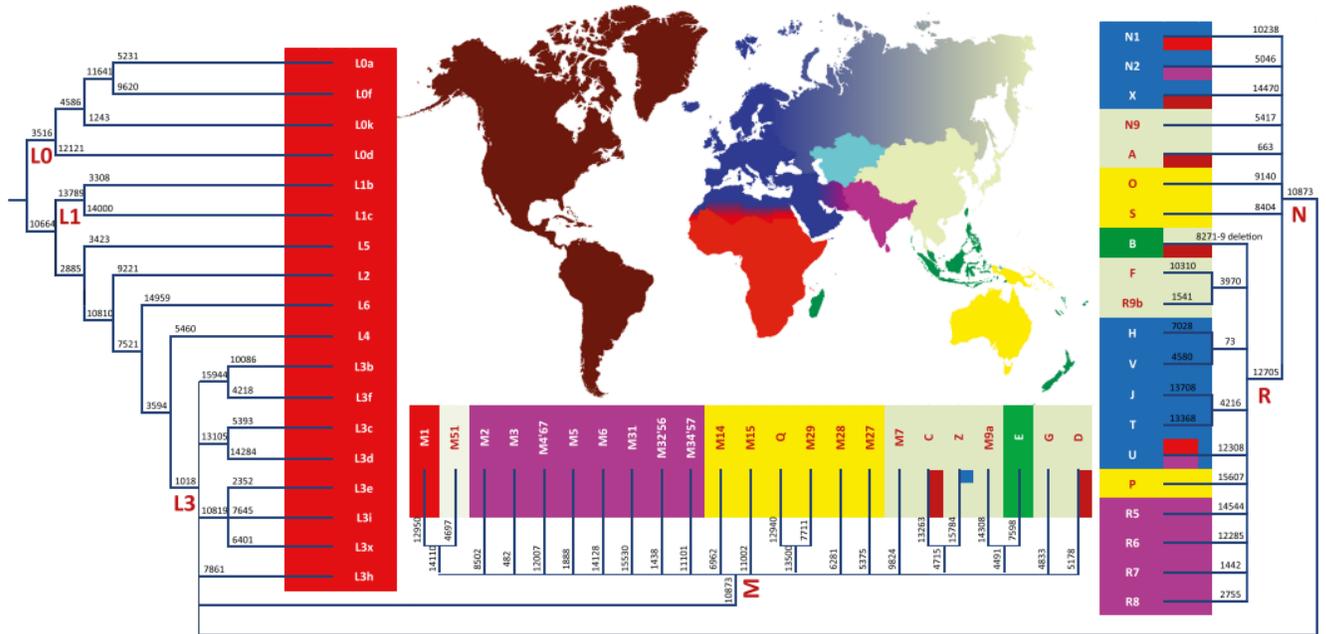


Figura 1. Árbol de haplogrupos de ADNmt, con un mapa mundial de su distribución. Tomado de (Kivisild, 2011).

La doble cadena del ADN mitocondrial humano es asimétrica, pues una cadena (pesada) es rica en guanina (G) y timina (T) y otra (cadena ligera) es rica en adenina (A) y citosina (C) (Schon, 2015). La mayor parte de la información genética está codificada en la cadena pesada, incluyendo dos ARN ribosomales, 14 ARN de transferencia y 12 polipéptidos, mientras que la cadena ligera solo codifica para ocho ARN de transferencia y un polipéptido (Taanman, 1999). La figura 2 muestra los genes mitocondriales en el mapa del genoma mitocondrial, mientras que el transcriptoma completo se observa en la figura 3.



Figura 2. Mapa del genoma mitocondrial. Visualizado en Geneious Prime 2023.0.4 (<https://www.geneious.com>), datos tomados de NCBI (NC_012920.1).

Al haber múltiples mitocondrias en la célula, hay también numerosas copias del genoma mitocondrial. Si todas las copias son genéticamente idénticas, existe homoplasmia. Si, por el contrario, hay dos o más genomas mitocondriales distintos, existe una condición de heteroplasmia (Tuppen et al., 2009). Estas distintas versiones de ADN mitocondrial pueden llegar a existir al haber una reparación ineficiente del mismo, porque este se encuentra en un ambiente localizado de oxidación, y por la tasa de replicación que posee. El concepto de heteroplasmia toma relevancia al considerar las enfermedades mitocondriales. Al existir entre 80 y 90% de copias mutantes (generando así heteroplasmia) ya se expresará el fenotipo de la enfermedad mitocondrial (Chinnery & Hudson, 2013).

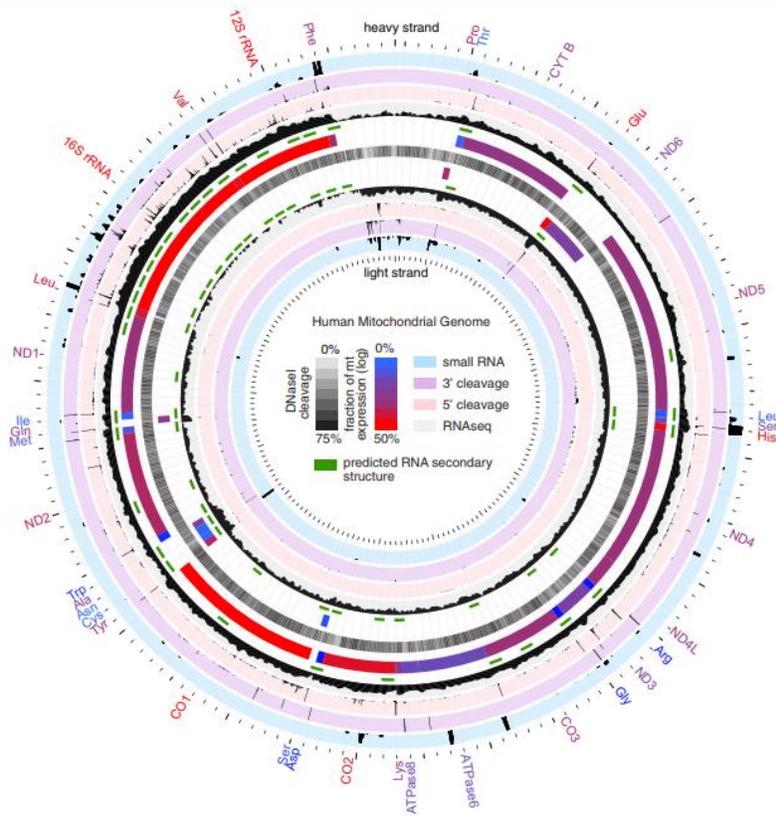


Figura 3. Mapa del transcriptoma mitocondrial. Tomado de (Mercer et al., 2011).

Se puede argumentar también que la heteroplasmia debería ser el estado natural del genoma mitocondrial, dada la alta tasa de mutación del ADN en la mitocondria (White et al., 2008). A pesar de esto, la heteroplasmia solo tendría un papel importante en la evolución si pudiera persistir en la descendencia de las líneas celulares. Sin embargo, existen reportes que indican que después de unas cuantas generaciones, por acción de algunos cuellos de botella genéticos, la mayoría de las heteroplasmias desaparecen, perdiéndose así muchísimas mutaciones *de novo*. El tiempo en que tarda en desaparecer la heteroplasmia varía entre especies, con un rango que incluye 500 generaciones en insectos y dos generaciones, e incluso hasta una en vacas (Kivisild, 2011; White et al., 2008).

Algunos polimorfismos comunes en la población tienen un pequeño efecto sobre el riesgo de desarrollar enfermedades humanas comunes, posiblemente asociados a factores ambientales, de acuerdo con la hipótesis CDCV (Enfermedad común, variante común). Esta hipótesis es el paradigma científico tras los estudios de asociación de genoma completo

(GWAS), que buscan identificar loci susceptibles a diversas enfermedades (Hemminki et al., 2008; Stewart & Chinnery, 2015).

Las diferencias entre el ADN nuclear y mitocondrial se extienden a sus procesos de replicación, transcripción y traducción, que se llevan a cabo en la mitocondria de manera distinta que en el genoma nuclear. La replicación del ADNmt, y el mantenimiento de su integridad, están controlados por el ADN nuclear (Chinnery & Hudson, 2013). El sitio de la iniciación de replicación del ADN mitocondrial, el OH (origen de la síntesis de la cadena pesada) se encuentra en el D-loop (Taanman, 1999). La replicación del ADNmt se lleva a cabo por un replisoma multiproteico que incluye la ADNmt polimerasa- γ , la helicasa Twinkle (PEO1), topoisomerasa I, entre otras, como dos subunidades accesorias con un peso de 55 kDa; además contiene a mtSSB, una proteína que estabiliza regiones de cadena sencilla en el ADNmt en las horquillas de bifurcación, para mejorar así la acción de la γ -polimerasa. Este replisoma llevará a cabo tres funciones: actuar como ADN polimerasa, revisar errores como lo hace 3'-5' exonucleasa, y llevar a cabo la reparación enzimática del ADNmt como 5' dRPliasa (Chinnery & Hudson, 2013).

Se han propuesto dos modelos para la replicación del ADN mitocondrial: a) el modelo asincrónico o de desplazamiento de hebra (strand-displacement), donde se inicia la replicación por medio de la transcripción del D-loop, y la replicación de la cadena continúa en sentido de las manecillas del reloj desde el punto O_H hasta que el punto O_L es expuesto, lo que permite que la síntesis de la cadena ligera también se lleve a cabo en sentido de las manecillas del reloj, y así hasta que toda la molécula de ADN mitocondrial haya sido copiada; b) La replicación simétrica de cadenas acopladas es el otro modelo, y ocurre solo bajo ciertas circunstancias; la replicación en este modelo se inicia de puntos múltiples distribuidos a lo largo de un fragmento de 4 kb en una posición 3' del D-loop, y parte en ambas direcciones en una especie de burbujas de replicación. La replicación entonces se detiene en O_{H2} , para que el resto de la molécula se copie en una sola dirección (Stewart & Chinnery, 2015).

Existen dos sitios principales de iniciación de la transcripción del genoma mitocondrial en la región del D-loop, donde cada uno codifica para una cadena distinta. IT_{H1} , que inicia en la posición 561 y codifica para la cadena pesada, y IT_L , que codifica la cadena ligera a partir de la posición 407 (Berdanier, 2005).

Estos sitios se encuentran dentro de los promotores para ambas cadenas del ADN mitocondrial, HSP y LSP, que a pesar de encontrarse tan cercanos son independientes uno de otro (Taanman, 1999). HSP en realidad se compone de dos promotores, HSP1, que permite la transcripción de los dos ARN ribosomales de la mitocondria, y HSP2, que promueve la transcripción del resto de la cadena pesada; por otro lado, LSP genera o un solo transcrito largo o varios transcritos pequeños que actuarán como cebadores, mediante el procesamiento de ARN con ARNasa mitocondrial (Stewart & Chinnery, 2015). La maquinaria de transcripción requerida es la ARN polimerasa mitocondrial (POLRMT), un factor de transcripción mitocondrial A y uno de dos factores homólogos de transcripción mitocondrial, B1 o B2, además de requerir al factor de elongación de la transcripción (TEFM) (D'souza & Minczuk, 2018; Taylor & Turnbull, 2007). La transcripción mitocondrial resulta en un transcrito policistrónico largo, donde las secuencias codificantes están separadas por ARNt-mt, y se requiere de una excisión endonucleolítica para liberar los ARNt, ARNm y ARNr. Cada tipo de ARN madura de una manera diferente, los ARNm (a excepción de MT-ND6) pasan por una poliadenilación 3', llevada a cabo por mtPAP. Los ARN de transferencia mitocondriales sufren modificaciones nucleotídicas químicas, además de la adición de la secuencia CCA en su extremo 3' (D'souza & Minczuk, 2018).

Tabla 3. Diferencias entre los codones del genoma nuclear y genoma mitocondrial (ADNmt).

Adaptado de (Chinnery & Hudson, 2013).

Codón	Significado	
	ADN Nuclear	ADN Mitocondrial
UGA	Terminación	Triptófano
AGA	Arginina	Terminación
AGG		
AUA	Isoleucina	Metionina

Las diferencias entre el genoma nuclear y el genoma mitocondrial se extienden al significado de algunos de los codones de las secuencias. Mientras que el ADN nuclear tiene tres codones de terminación (UAA, UGA y UAG), el ADNmt tiene solo dos (AGA y AGG). Para compensar esta diferencia, se insertan codones UAA como modificación a nivel post-transcripcional (Chinnery & Hudson, 2013). Un resumen de estas diferencias se aprecia en la tabla 3.

La región control es la zona más variable en el genoma mitocondrial, mientras que la región que presenta menos variaciones es la secuencia del gen de ARN ribosomal 16S (Cann et al., 1987).

3. Análisis de Asociación Genética

Los estudios de asociación genética son una herramienta muy útil y socorrida para buscar y evaluar correlaciones entre el estado de enfermedad y la variación genética para identificar genes candidatos o regiones del genoma que puedan contribuir a una enfermedad específica (Lewis & Knight, 2012).

Para enfermedades genéticamente complejas, los alelos de riesgos son más probabilísticos que determinantes. Esto quiere decir que la presencia de un alelo de alto riesgo podría solo incrementar levemente el riesgo de la enfermedad (Hirschhorn et al., 2002).

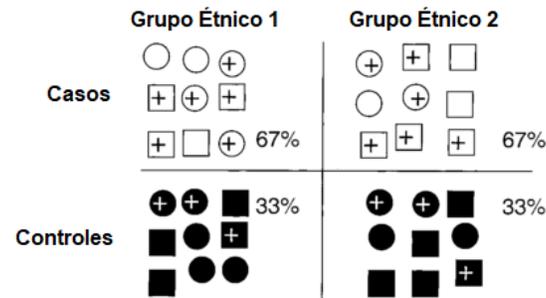
Uno de los problemas de los estudios de asociación genética es que los resultados son difícilmente reproducibles. En ocasiones, esto es producto de errores *tipo I* (o resultados falso-positivos), efectos genéticos tan pequeños que resultan indetectables para el poder estadístico del estudio (errores de *tipo II*, o falso-negativos), o una verdadera variabilidad en la asociación genética entre distintas poblaciones (Lee, 2015) (Figura 4).

La asociación genética que detecta este tipo de estudios puede ser directa, indirecta o un error de tipo I. Las asociaciones directas ocurren cuando el SNP estudiado es el que tiene una asociación verdadera con la enfermedad, las indirectas son cuando el SNP estudiado no tiene por sí mismo asociación con la enfermedad, pero está en un estado de desequilibrio de ligamiento (LD) con otra variante que sí tiene asociación.

Finalmente, los errores de tipo I se presentan cuando existe algún tipo de confusión en la muestra, como una población estratificada o mezcla genética en la población (Lewis & Knight, 2012). Esto ocurre cuando las frecuencias alélicas de un SNP causal de una enfermedad son muy diferentes entre distintas poblaciones, cuando la ancestría de los casos y los controles no concuerda entre sí, o cuando la estructura de la población no se toma en cuenta en el modelo estadístico utilizado para calcular la asociación (Liu et al., 2013). Con el fin de disminuir estos errores, es útil estimar la ancestría de una población, lo cual se puede hacer por distintos métodos, dependiendo de lo que se quiera lograr, ya sea detectar la estructura de la población, definir la cantidad de subpoblaciones en la muestra, asignar individuos a cada una de estas subpoblaciones, definir la cantidad de poblaciones

ancestrales en poblaciones de mezcla genética, asignar proporciones de estas componentes ancestrales a individuos mestizos o identificar la ancestría genética de diferentes segmentos cromosómicos de un individuo (Pritchard et al., 2000).

a. Verdadera asociación positiva



b. Falsa asociación positiva

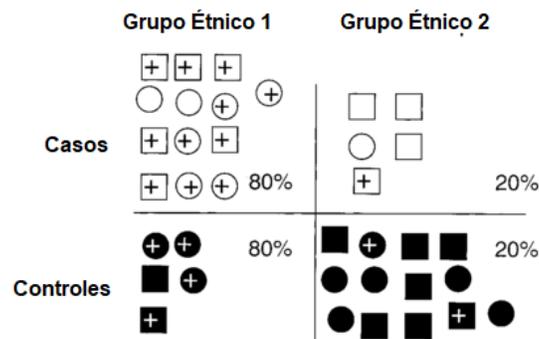


Figura 4. Error de tipo I ocasionado por estratificación de la población, donde las figuras con el signo de suma (+) poseen el alelo de riesgo estudiado. a) En una asociación positiva verdadera con el alelo de riesgo, en ambos grupos étnicos el alelo se encuentra en mayor frecuencia en los casos en comparación de los controles, mientras que en b) existe un falso positivo debido a la diferencia entre poblaciones, donde el alelo de riesgo se presenta de manera más frecuente en el primer grupo étnico estando sobrerrepresentados los casos de esta ancestría. Tomado de (Hirschhorn et al., 2002)

La población de Latinoamérica está principalmente compuesta por mestizos, quienes son una mezcla de poblaciones heterogéneas, con componentes variados de origen nativo americano, europeo, africano y asiático (Alarcón-Riquelme et al., 2016). Particularmente en México existe mayor predominio de los componentes nativo americano y europeo. El porcentaje de componente africano en el país (2.2 - 6.3%) es el más bajo de Latinoamérica, mientras que el porcentaje del componente nativo americano (50.9 – 68.6%) es el más alto

del continente. Además, el porcentaje de estos componentes varía ampliamente dependiendo de la región geográfica: en el norte del país predomina el componente europeo; en el centro y sureste, el amerindio; y en la costa, el africano (Salazar-Flores et al., 2015). En México, el porcentaje de mestizos es superior al 90% del total de habitantes del país (Moreno & Sandoval, 2013), y resulta importante evaluar los efectos que tienen la estratificación de la población de estudio y la heterogeneidad del LD en los estudios de asociación genética (Liu et al., 2013).

Existen dos tipos de estudios de asociación genética. Los GWAS, o estudios de asociación de genoma completo, permiten determinar la distribución de SNVs en cientos o incluso miles de personas que pueden o no tener una enfermedad determinada. Al cuantificar cuáles SNVs ocurren junto a los síntomas de la enfermedad, se puede hacer una estimación estadística sobre el nivel de riesgo aumentado que confiere cada SNP (Norgarrd, 2008). Por otro lado, los estudios de gen candidato (CG) se basan en la tipificación de polimorfismos en genes que tienen una función relacionada a la fisiopatogenia de la enfermedad, que estén en loci ligados a ella o que ya hayan demostrado asociación a la enfermedad en estudios con modelos animales, con la desventaja de que es un tipo de estudio de asociación más susceptible a la estratificación de la población (Velázquez-Cruz et al., 2012).

De igual manera, existen distintas maneras de realizar un estudio de asociación. Se puede realizar un estudio familiar, donde se estudien casos y sus familias. El método más utilizado son los estudios caso-control, donde se toman muestras de una serie de individuos que padecen la enfermedad de interés, sin que estos estén emparentados entre sí, y se conjuntan con una serie de individuos sin la enfermedad que fungen como controles (Lewis & Knight, 2012). Se puede, alternativamente, utilizar un modelo TDT, donde se empareja a los casos con familiares que serán los controles (Hellwege et al., 2018).

Gracias a estudios de asociación genética de gran escala, se han identificado variantes de ADNmt que confieren protección o riesgo hacia distintas enfermedades humanas comunes. Es más frecuente hallar asociaciones que incrementen el riesgo a padecer una enfermedad, a diferencia de las asociaciones que protegen contra estados patológicos. Esto sugiere que existen variantes deletéreas nuevas, a nivel de sub-haplogrupos, que aún no han desaparecido de la población a través de la selección natural. Estos alelos de alto riesgo se concentran particularmente en la región del D-loop, que es la zona más variable del genoma mitocondrial, y está además implicada en la replicación del ADNmt y la expresión de genes,

sugiriendo que estas sutiles diferencias en la replicación y transcripción del ADN contribuyen a la patogénesis de enfermedades comunes relacionadas a la edad (Stewart & Chinnery, 2015).

Justificación

México presenta una de las más altas prevalencias de Lupus Eritematoso Sistémico (LES), más aún, está reportado que los pacientes mexicanos presentan una enfermedad más grave, con un inicio más temprano y con un mayor índice de actividad que otras poblaciones. Existen pocos estudios de asociación genética para esta enfermedad que incluyan población mexicana, entre los que destacan los resultados de Alarcón-Riquelme et al., Prokunina et al. y Han et al., además del trabajo del grupo dirigido por la doctora Lorena Orozco en el Laboratorio de Inmunogenómica y Enfermedades Complejas del INMEGEN, que han determinado la asociación de diversos genes (incluyendo *STAT4*, *PTPN22*, *ITGAM*, *IRF5*, *TLR7*, *IRAK1-MECP2*, *TYK2*, *TNF- α* , *PDCD1* y *NRF2*) a LES en población mestiza mexicana (Abelson et al., 2009; Baca et al., 2006; Córdova et al., 2010; García-Ortiz et al., 2010; Jiménez-Morales et al., 2009; Velázquez-Cruz et al., 2007). De estos estudios, ninguno considera la influencia que pueda tener el genoma mitocondrial en la patogénesis del lupus, e incluso a nivel global, son pocos los estudios que lo hacen. Al considerar los mecanismos en que las funciones mitocondriales están involucradas en el desarrollo del lupus, es posible que existan variantes en el genoma mitocondrial que estén asociados a esta enfermedad.

Hipótesis

Existen variantes del genoma mitocondrial propias de la población pediátrica mexicana asociadas al riesgo a padecer Lupus Eritematoso Sistémico

Objetivos

Objetivo General

Identificar las variantes vinculadas al Lupus Eritematoso Sistemático en el genoma mitocondrial en una población pediátrica mexicana.

Objetivos Particulares

- Comparar la frecuencia de las variantes del mitogenoma asociadas al Lupus Eritematoso Sistémico en la población pediátrica mexicana con las poblaciones incluidas en el Proyecto de los 1000 Genomas (The 1000 Genomes Project Consortium, 2015).
- Identificar y determinar la frecuencia de los haplogrupos mitocondriales en la población pediátrica mexicana de estudio para compararla con los reportes anteriores en dicha población.
- Establecer las diferencias intrapoblacionales de la frecuencia de los haplogrupos mitocondriales con LES y los controles sanos.

Metodología

Población de Estudio

En el presente se utilizó un diseño de tipo caso-control, donde se incluyeron 100 pacientes mexicanas con diagnóstico de LES y 150 controles sanas sin antecedentes de enfermedades autoinmunes. Los criterios de inclusión para ambos grupos se enlistan a continuación.

Casos

Criterios de Inclusión:

- Pacientes mexicanos con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico pediátrico realizado antes de los 16 años según los criterios del ACR
- Debut de la enfermedad con nefritis lúpica, o desarrollo de esta durante el primer año después del diagnóstico.

Criterios de Exclusión:

- Rechazo de la autorización para participar en el estudio.
- Familiar de primer grado ya participando en el estudio.

Controles

Criterios de Inclusión:

- Personas mayores de 30 años.
- Sin historial de enfermedades autoinmunes o crónicas.

Criterios de Exclusión:

- Rechazo de la autorización para participar en el estudio.
- Familiar de primer grado ya incluido en el estudio.

Para ambos grupos, se utilizaron los siguientes criterios de eliminación:

- Muestra de DNA insuficiente.
- Individuos que no pasaron el control de calidad durante el análisis con el software de asociación de genoma, PLINK v1.07.

- Participantes del proyecto que decidieron abandonar el estudio durante su desarrollo.

Estrategia General

Se realizó un estudio de asociación de casos y controles, para conocer si existen variantes en el genoma mitocondrial de la población pediátrica mexicana que se asocian al desarrollo de lupus eritematoso sistémico.

Se incluyeron 100 pacientes mexicanas con diagnóstico de LES pediátrico de inicio en la infancia, diagnosticados según los criterios del Colegio Americano de Reumatología, y 150 mujeres adultas mexicanas sin antecedentes de enfermedades autoinmunes como controles.

El ADN de estos pacientes se obtuvo de sangre periférica utilizando el kit *Maxikit* de QIAGEN. La integridad del ADN se verificó en geles de agarosa al 1% teñidos con bromuro de etidio y se cuantificó por espectrofotometría de UV. Esta población de estudio fue genotipificada con el chip de microarreglo *Human Array 6.0* de Affymetrix el cual contiene 906,600 sondas para la genotipificación de SNVs distribuidas en todo el genoma.

La ancestría del ADN nuclear de la muestra de estudio se determinó mediante los softwares *ADMIXTURE v.1.23* (Alexander et al., 2009) y *EIGENSOFT v.5.0* (Price et al., 2006) para verificar la ascendencia de esta y evitar falsos positivos debido a estratificación de la población.

Las SNVs correspondientes al genoma mitocondrial fueron extraídos con el software *PLINK v.1.07* (Purcell, 2007), con lo que se obtuvieron 107 variantes, y la asociación de estas con el desarrollo de LES se realizó por medio de un modelo de regresión logística multivariado ajustando por estratificación poblacional.

Con el software *WISARD v.1.3.2* (Lee et al., 2018) se realizó una prueba de colapso (*burden test*) con las SNVs mitocondriales agrupados según el gen al que pertenecen, y otra prueba con las SNVs mitocondriales agrupados en un solo set, para comparar los resultados de ambos análisis y determinar el peso de estas asociaciones en conjunto.

La determinación de haplogrupos mitocondriales se llevó a cabo por medio del software Haplogrep II (van Oven, 2015; Weissensteiner et al., 2016). Además, la frecuencia de las

SNVs mitocondriales que mostraron asociación a LES fue comparada con las poblaciones de la fase III del Proyecto de los 1000 Genomas por medio de pruebas de χ^2 (Gibbs et al., 2015).

Análisis estadísticos y bioinformáticos

3.1.

3.2. PLINK v.1.07: Whole genome association analysis toolset

PLINK (Purcell, 2007) es una herramienta bioinformática de código abierto con interfaz de línea de comandos para análisis de asociación de genoma completo, que está diseñada para realizar un rango de análisis básicos a gran escala, de forma computacionalmente eficiente.

Este software se utilizó para realizar los controles de calidad básicos del microarreglo, extraer los marcadores mitocondriales y finalmente para realizar el análisis de asociación genética con un modelo de regresión logística multivariado ajustando por estratificación poblacional, para determinar si existían SNVs mitocondriales asociados al riesgo a padecer LES.

3.3. WISARD v.1.3.2: workbench for integrated superfast association studies for related datasets

WISARD (Workbench para estudios de asociación integrados súper-veloces con datos relacionados) (Lee et al., 2018) es una herramienta bioinformática con interfaz de línea de comandos pensada para análisis estadísticos con datos ómicos.

A través de *WISARD* se realizó otro análisis de asociación con las SNVs obtenidas con *PLINK*, pero mediante una prueba de colapso, donde se agrupan las variantes de estudio en sets definidos. En este caso, se agruparon las SNVs mitocondriales de acuerdo con el gen donde están localizados, y se realizó un segundo análisis de asociación con este mismo software, ahora agrupando todas las SNVs mitocondriales como un solo conjunto.

Estas pruebas de colapso son especialmente útiles para medir el impacto que puedan tener variantes raras asociadas a la enfermedad ($MAF \leq 0.5\%$), al combinar la información de múltiples sitios de variantes, con el fin de enriquecer las señales de asociación a la vez que se reducen los grados de libertad de la prueba (Lee et al., 2014; Lee et al., 2018), con riesgo de reducir el poder estadístico de la prueba al colapsar variantes funcionales y no

funcionales (Li & Leal, 2008), además de solo considerar la significancia total de la variante colapsada, sin dar información sobre qué variante del conjunto es la responsable de la significancia, aunado a eso, las pruebas de colapso asumen que todas las variantes actúan en la misma dirección respecto al riesgo a padecer una enfermedad y considera a todas las variantes en el set como causales (Goldstein et al., 2013; Lee et al., 2014). Para contrarrestar estas limitaciones, se desarrolló el método combinado de colapso y multivarianza (CMC), que es estadísticamente poderoso y robusto ante la clasificación errónea de variantes no funcionales y es un análisis que *WISARD* es también capaz de llevar a cabo (Li & Leal, 2008).

3.4. ADMIXTURE v. 1.23: Fast ancestry estimation

Existen diferentes métodos para estudiar la ancestría de una población, dependiendo de lo que se requiera y de si se busca estudiar la ancestría de manera local o global. La estimación de la ancestría local se encarga de identificar el origen de cada cromosoma, por segmentos; la ancestría global busca estimar la proporción de ancestría correspondiente a cada población de referencia en cada uno de los individuos de la muestra. *ADMIXTURE* (Alexander et al., 2009) es un software para estimar ancestrías globales que hace una estimación de máxima verosimilitud de ancestrías individuales de conjuntos de datos de genotipificación masivos, que hace cálculos rápidamente con un algoritmo rápido de optimización numérica, logrando obtener tanto las frecuencias de los componentes ancestrales como las proporciones de mestizaje de cada individuo en la muestra. Los datos que utiliza *ADMIXTURE* son grandes conjuntos de datos compuestos por SNVs autosómicas, donde los individuos no están emparentados.

Se estimó con *ADMIXTURE* la ancestría de cada una de las muestras de la población, tomando como referencia tres poblaciones ancestrales (K): nativo americana, europea y africana, para verificar si existía diferencia entre la composición de la ancestría entre los casos y los controles.

EIGENSOFT v.5.0.

EIGENSOFT es un paquete informático que combina métodos de genética de poblaciones y el método *EIGENSTRAT* para corrección de la estratificación haciendo uso del análisis de componentes principales (PCA) para modelar las diferencias entre la ancestría de casos y controles a lo largo de ejes continuos de varianza (Price et al., 2006).

El PCA realizado con *EIGENSOFT* sirvió para analizar la estructura de la población, de manera similar a lo realizado con *ADMIXTURE*, también con tres poblaciones ancestrales.

3.5. Haplogrep II

Haplogrep II es una aplicación web que provee una forma completamente automatizada para determinar haplogrupos mitocondriales (van Oven, 2015; Weissensteiner et al., 2016). Se ingresaron los datos de la genotipificación de la población utilizada en el estudio para determinar los haplotipos mitocondriales de esta.

Resultados

En este trabajo se incluyeron 100 pacientes femeninas con diagnóstico de LES antes de los 16 años, de acuerdo con los criterios del ACR (Yu & Chang, 2014), con un promedio de edad al inicio de los síntomas de 11.61 ± 2.07 años. Adicionalmente se incluyeron 150 mujeres mayores de 18 años, aparentemente sanas, sin antecedentes de enfermedades autoinmunes como grupo control. Todas las pacientes y controles fueron captadas previo consentimiento informado del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI y del Instituto Nacional de Pediatría.

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) utilizando el software *EIGENSOFT* v.5.0 para determinar la estructura poblacional de la muestra, utilizando tres poblaciones de referencia: Indígenas mexicanos sin evidencia de mestizaje (AME) colectados en nuestro laboratorio, además de residentes de Utah con ancestría de Europa del Norte y Europa del Oeste de la colección CEPH (CEU) y los yoruba de Ibadán en Nigeria (YRI) derivados del proyecto de los 1000 genomas fase 3.

La figura 5 muestra el resultado de este análisis, y se observa que los casos y los controles de la población utilizada presentan un comportamiento similar, localizándose entre la población indígena y europea, tendiendo más hacia la primera. La población se comporta de manera similar a otros estudios de ancestría realizados con población mestiza (Bryc et al., 2010), de modo que se puede considerar una muestra representativa de la población mestiza del país.

La ancestría de la población se estudió también mediante el software *ADMIXTURE* v.1.23, observándose así la ancestría global de cada individuo de la muestra. La figura 6 es el resultado de este análisis, y muestra que la población de estudio es una población mestiza.

A excepción de 7 individuos cuya proporción de ancestría CEU era de 0.001% cada una, la proporción de ancestría europea en la población es de 2.00 – 64.95% (\bar{x} = 27.17%), la ancestría africana se encuentra entre el 0.001 – 16.77 % (\bar{x} = 3.33%). El componente nativo americano de la muestra se encuentra en mayor proporción, entre 31.11 – 99.998 % (\bar{x} = 69.5%), comportándose de manera similar a datos previamente reportados (Bryc et al., 2010; Salazar-Flores et al., 2015). En la figura 7 se muestra una comparación entre la proporción de ancestrías para cada una de las poblaciones en los casos y controles, sin

observarse ninguna diferencia notable entre cada par, es decir que no existe una diferencia en la composición de ancestría entre casos y controles.

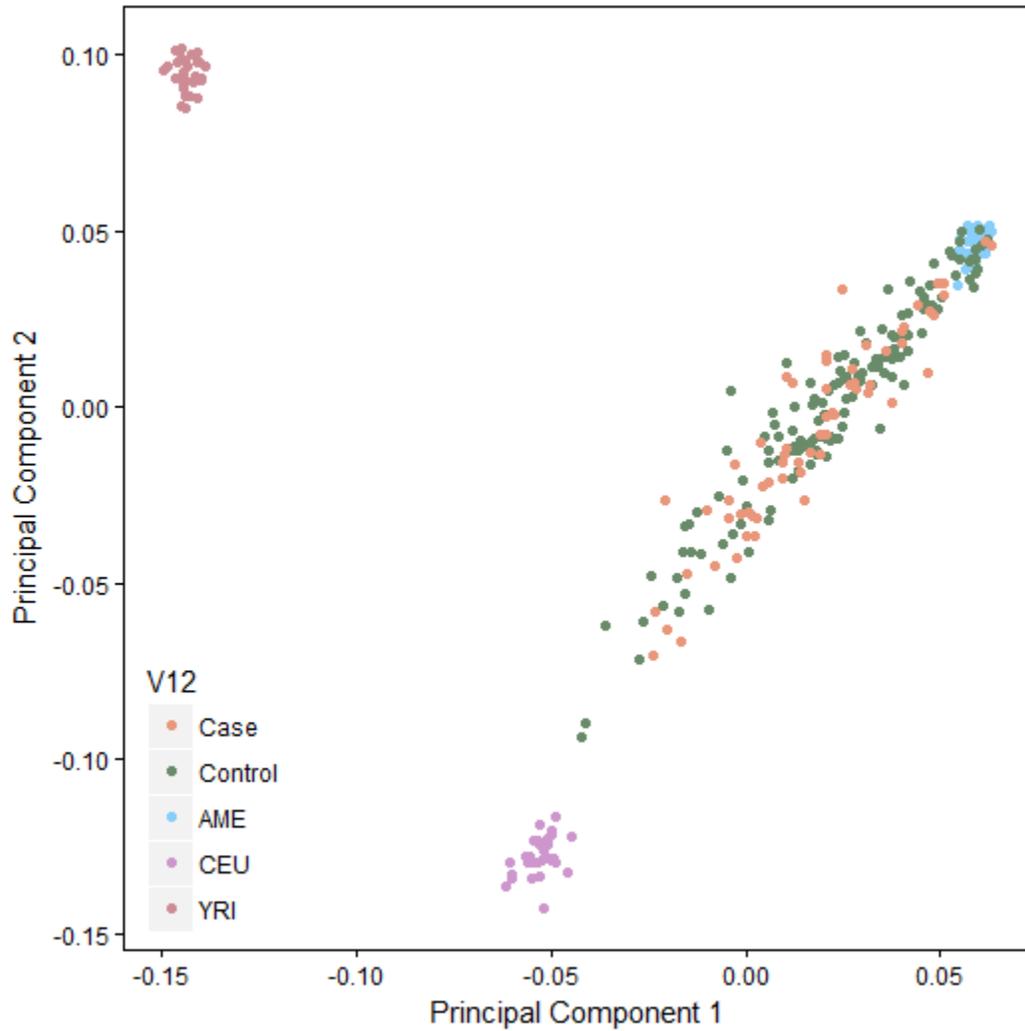


Figura 5. Análisis de Componentes Principales (PCA) de la ancestría de los casos y controles incluidos en el estudio comparados con poblaciones de referencia (AME: Amerindios, CEU: Residentes de Utah con ancestría de Europa del Norte y Europa del Oeste de la colección CEPH, YRI: Yorubas de Ibadán, Nigeria).

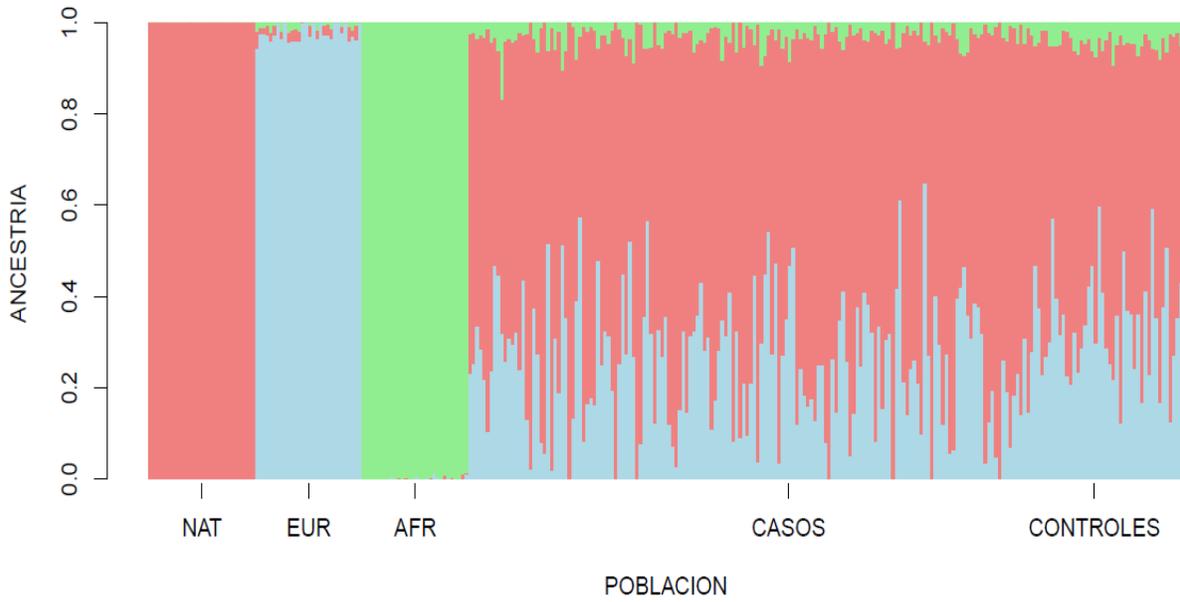


Figura 6. Análisis de ancestría global. Cada una de las barras verticales representa un individuo. Población nativo-americana (rosa), europea (azul), africana (verde).

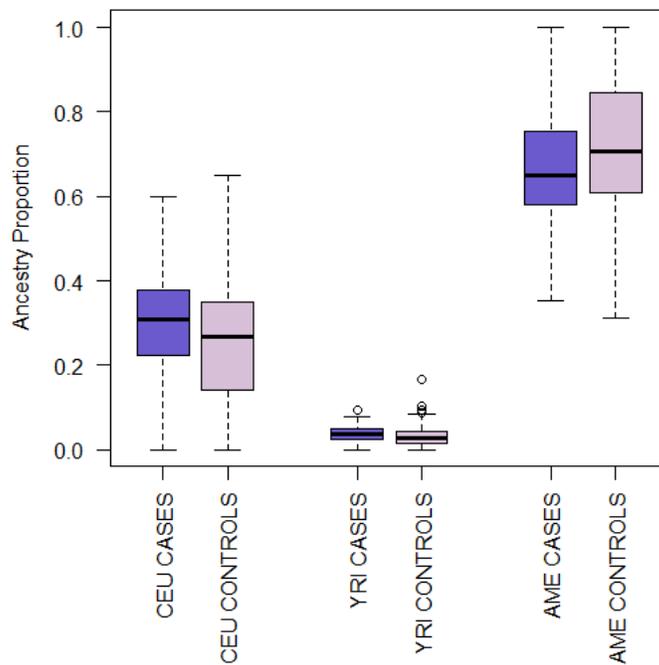


Figura 7. Comparación de la proporción de la ancestría según tres poblaciones (CEU, YRI y AME) en casos y controles.

Las SNVs ubicadas en el genoma mitocondrial se extrajeron de los datos de genotipificación del genoma completo, aplicando además controles de calidad, excluyendo los SNVs que no contaran con al menos un 98% de genotipado, obteniéndose así un total de 107 variantes mitocondriales a estudiar.

El estudio de asociación fue ajustado por ancestría, y adicionalmente por control genómico, esta metodología es ampliamente usada para contrarrestar el efecto de la estratificación poblacional sobre el estudio de asociación, al utilizar los propios genomas para inducir controles similares a los que habría en un estudio basado en familias y determinar lo que constituye una desviación significativa del modelo nulo sin desequilibrio de ligamiento (Devlin & Roeder, 1999). Después de la corrección, se encontró a la variante rs28358578 con un valor de p significativo ($p = 0.007697$; Tabla 4; figura 8). Este SNP representa un cambio C -> T en la secuencia de ADNmt, y se encuentra en 186 individuos de la población. De estos, 56 son casos y 130, controles. La frecuencia del alelo menor más alta reportada por *HapMap* en *Ensembl 95* es de 0.12 en población YRI (Zerbino et al., 2018), mientras que la frecuencia en la población de estudio resultó ser de 0.1882, con una frecuencia en casos de 0.03571 y en controles de 0.2538 (Tabla 5).

La variante rs28358578 presenta un OR = 0.1324, con CI (0.02992-0.5857) lo que indica un efecto protector para LES, es decir, que la variante está asociada a un menor riesgo de presentar LES.

Tabla 4. Asociación por regresión logística. Solo existe un SNP con asociación significativa a LES (rs28358578).

SNP	BP	A1	OR	SE	L95	U95	STAT	p -value
rs28358578	2332	T	0.1324	0.7588	0.02992	0.5857	-2.665	0.007697

BP = Par de bases donde se localiza el SNP. A1 = Alelo de prueba. OR = Razón de momios. SE = Estimado del error estándar. L95 = Límite inferior del intervalo de confianza . U95 = Límite superior del intervalo de confianza STAT = Coeficiente de la prueba t. p -value = Valor p .

Tabla 5. Frecuencia de alelos y genotipos para la variante *rs28358578* en poblaciones de referencia de HapMap y en la muestra.

Población	Alelo: frecuencia (cuenta)	Genotipo: frecuencia (cuenta)
HapMap-HCB	C: 1.000 (90)	C C: 1.000 (45)
Hapmap-ASW	C: 0.959 (94) T: 0.041 (4)	C C: 0.959 (47) T T: 0.041 (2)
HapMap-CEU	C: 1.000 (120)	C C: 1.000 (60)
HapMap-JPT	C: 1.000 (90)	C C: 1.000 (45)
HapMap-YRI	C: 0.876 (198) T: 0.124 (28)	C C: 0.876 (99) T T: 0.124 (14)
Muestra	C: 0.812 (302) T: 0.188 (70)	C C: 0.812 (151) T T: 0.188 (35)
Casos	C: 0.964 (108) T: 0.036 (4)	C C: 0.964 (54) T T: 0.036 (2)
Controles	C: 0.746 (194) T: 0.254 (66)	C C: 0.746 (97) T T: 0.254 (33)

De manera adicional se estudió la relación entre las SNVs mitocondriales y el LES a través de una prueba de colapso utilizando el software de WISARD. La tabla 6 muestra que ninguno de los genes mitocondriales está asociado de manera significativa con LES, a excepción del conjunto de MT-RNR2, que presenta $p = 0.0138422$. Esta significancia se debe únicamente a la presencia de la variante *rs28358578* en este gen. Al realizar el mismo análisis, pero considerando todas las SNVs mitocondriales en un solo conjunto tampoco se encuentra significancia ($p = 0.693001$).

Dentro de la secuencia del gen MT-RNR2, se encuentra la secuencia del péptido humanina (HN) (Figura 9), compuesto por 24 residuos, y que tiene efectos anti-apoptóticos y anti-inflamatorios, y que se ha asociado previamente a la enfermedad de Alzheimer.

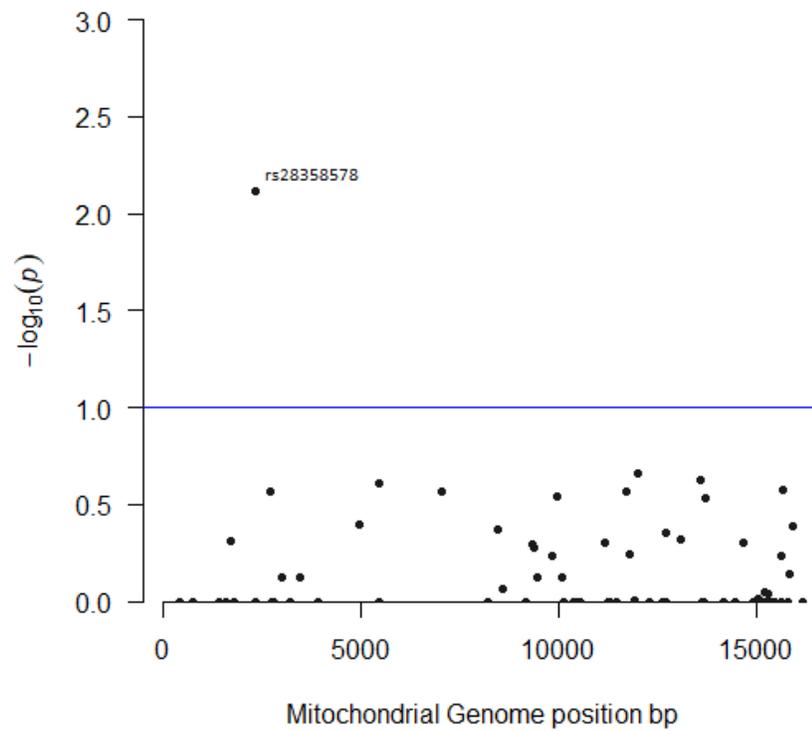


Figura 8. Manhattan Plot de las SNVs del genoma mitocondrial incluidos en el análisis de asociación. El SNP rs28358578 se encuentra asociado al Lupus Eritematoso Sistémico de manera significativa.

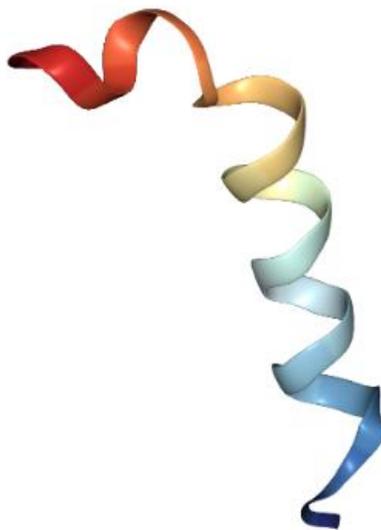


Figura 9. Estructura tridimensional de la humanina. Tomada de (Benaki et al., 2005).

Tabla 6. Estudio de asociación utilizando pruebas de colapso para determinar la relación entre genes mitocondriales y LES.

GENE	SZSET	NVARIAN	MAC	NIMP	STAR	END	STAT_CMC	P_CMC
	T			T				
Mitochondria	60		120	46	408	15824	0.155855	0.693001
			2					
ATP6	2	2	68	2	8584	9163	0.0654579	0.798069
ATP8	1	1	10	5	8468	8468	0.218097	0.640494
CO1	2	2	8	0	6481	7028	0.731238	0.392482
CO2	1	1	2	1	8206	8206	0.440686	0.506792
CO3	5	5	182	5	9347	9950	0.527376	0.467712
CYB	12	12	252	10	14905	15824	0.0069875	0.933381
								9
D-LOOP	1	1	2	1	408	408	0.440686	0.506792
MT-RNR1	3	3	8	0	769	1598	0.731238	0.392482
MT-RNR2	9	9	128	42	1700	3197	6.05816	0.0138422
ND1	2	2	8	0	3450	3918	0.731238	0.392482
ND2	3	3	120	50	4977	5465	0.972792	0.323985
ND3	3	3	10	2	10086	10373	0.731238	0.392482
ND4	8	8	312	6	11176	12007	2.10824	0.146508
ND4L	1	1	4	2	10550	10550	0.88536	0.346738
ND5	8	8	252	13	12612	13708	0.412209	0.520851
ND6	3	3	42	3	14178	14668	1.14138	0.285361

La primera línea corresponde al agrupamiento de todos los SNVs mitocondriales en un solo set. En rojo se resalta el conjunto de variantes que presentó significancia estadística con una prueba CMC (MT-RNR2). SZSET = Cantidad de variantes del gen en el set de datos. NVARIANT = Cantidad de variantes usadas en la prueba. MAC = Conteo del Alelo Menor de las variantes usadas. NIMP = Cantidad de genotipos imputados. START = Posición física de la primera variante en el gen. END = Posición física de la última variante en el gen. STAT_CMC = Estadística de la prueba CMC. P_CMC = p-value de la prueba CMC.

La determinación de haplogrupos mitocondriales presentes en la población de estudio indica que la mayoría de estos (59.64%) pertenece al haplogrupo de origen europeo H.

Están presentes en proporciones moderadas los cuatro haplogrupos de origen americano (A, B, C y D), que en conjunto suman el 31.83%, donde el haplogrupo más frecuente es el B, seguido del C y siendo el A el menos frecuente. Además de estos haplogrupos se encontró la presencia de otros tres haplogrupos europeos: J, U y T, junto con el haplogrupo asiático M y el africano L. El desglose completo de las frecuencias se encuentra en la Tabla 7.

Tabla 7. Frecuencia de haplogrupos del ADN mitocondrial presentes en la población de estudio

	Haplogrupos						
	A	B	C	D	H	L	Otros
N=223	6	30	22	13	133	14	5
%	2.69	13.45	9.86	5.83	59.64	6.28	2.24

Discusión

El lupus eritematoso sistémico (LES), es una enfermedad con un fuerte componente genético, y en el genoma nuclear se han descrito más de 100 loci asociados a esta enfermedad, gran parte de ellos ubicados en genes del sistema inmune, como el HLA (Fortuna & Brennan, 2013). México presenta una elevada incidencia de LES, con un aproximado de entre 1.8 y 7.6 casos por cada 100 mil habitantes (Coronado et al., 2018). Se ha descrito que, en población mexicana, el LES se presenta de manera más grave en comparación con poblaciones caucásicas. El pronóstico de vida para pacientes en México con LES mejoró a partir de la administración de esteroides, y en las últimas dos décadas, la supervivencia ha incrementado a más del 85% en 10 a 15 años, y a más de 65% en 20 años (Coronado et al., 2018). El conocer mejor el componente genético de LES en la población mexicana es esencial para en un futuro, tener mejores opciones de tratamiento para la población afectada.

La población estudiada representa a los individuos mexicanos, y la proporción de su ancestría nativo americana corresponde a las previamente reportadas para individuos de las regiones central y sureste de México (50.9-68.6%) (Salazar-Flores et al., 2015).

Se analizaron los haplogrupos mitocondriales de la población, y contrario a lo esperado, se identificó a la mayoría (59%) como H, que tiene origen europeo, mientras que sólo el 31.8% se identificaron como A, B, C o D, que son de origen americano.

Según datos históricos, la estimación de la ancestría utilizando marcadores genéticos nucleares clásicos ha mostrado que la ancestría europea, amerindia y africana varían a lo largo de las regiones geográficas del país. A pesar de esto, la ancestría amerindia predomina en todas las regiones, mientras que la proporción que presentan las otras dos es variable. Hay una mayor proporción de individuos con ancestría europea en la Ciudad de México (35-71%) y en las regiones del norte (35-55%) a comparación de las regiones centrales que se encuentran cercanas a la Ciudad de México (21%) y las zonas costeras del país (22-41%), mientras que la ancestría africana predomina en estas últimas, presentándose entre 22 y 41%. Por otro lado, la ancestría europea, estudiada con ADN mitocondrial, se encontró completamente ausente en la población indígena, y en proporción muy baja en la población mestiza del norte (5.3%) y de la Ciudad de México (3.2%); esto indicaría que se encontraría una mayor proporción de haplogrupos de origen nativo americano en los haplogrupos de la población de estudio, al haberse determinado con genoma mitocondrial (Guardado-Estrada et al., 2009; Moreno & Sandoval, 2013). La existencia de esta discordancia entre la ancestría genética mitocondrial y nuclear se ha sugerido como un factor importante que contribuye a la variación fenotípica en la población mexicana y que puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades como las autoinmunes (Zaidi & Makova, 2019). Hacen falta estudios adicionales para comprender la participación de la discordancia mitonuclear en el desarrollo de LES.

A pesar de que la mitocondria está fuertemente involucrada en el desarrollo de la enfermedad por mecanismos como defectos en la apoptosis, la liberación de NETs con material mitocondrial, entre otros; la relación entre el LES y los polimorfismos del ADNmt han sido poco explorada, menos aún en población mestiza mexicana, la cual tiene una composición genética complicada y muy distinta a las poblaciones caucásicas normalmente estudiadas.

En el pasado, se llegó a considerar al ADNmt y sus polimorfismos como una carga neutra, sin influencia negativa ni positiva en el origen de las enfermedades. Esto se ha refutado con el hallazgo de polimorfismos asociados a diabetes mellitus tipo 2, diversos tipos de cáncer, la penetrancia de algunos padecimientos mitocondriales e incluso, asociados a mayor longevidad (Cho et al., 2017), además de que existen enfermedades directamente

causadas por mutaciones en el ADNmt (Tuppen et al., 2009). Al existir una fuerte relación entre las funciones de la mitocondria y el origen del LES, queda también considerar si la secuencia del ADNmt está involucrada en el desarrollo de la enfermedad.

Los resultados del análisis de asociación realizados en la población de estudio arrojaron que la variante rs28358578 está relacionada de manera significativa con la protección para padecer LES. Esta variante, se encuentra en la posición 2332 del ADNmt y se ubica dentro del gen mitocondrial *MT-RNR2*. La *dbSNP* de *NCBI* indica que la consecuencia de esta variante es una variante a 2Kb upstream. *Ensembl 96* señala la consecuencia de este SNP como una variante que cambia una secuencia exónica no codificante en un transcrito no codificante.

La mayor parte de las variantes asociadas a enfermedades halladas a través de GWAS se encuentran en regiones no codificantes del genoma. Las variantes de riesgo se podrían ligar a variantes codificantes causales vecinas, pero también es posible que existan variantes relevantes funcionales que se encuentran en regiones no codificantes, pero que tienen consecuencias funcionales en genes cercanos (Zhang & Lupski, 2015). En el genoma mitocondrial, la mayor parte de las regiones del genoma son codificantes, y solo el 3% de la secuencia es no codificante, en comparación con el genoma nuclear, donde este porcentaje es del 93% (Chial & Craig, 2008). Estas regiones no codificantes del ADNmt corresponden al D-loop, a las secuencias de los ARNs ribosomales 12s y 16s y a pequeñas secuencias intergénicas. Las dos primeras clases son altamente polimórficas, con el menor grado de conservación del ADNmt, y existe evidencia de que pueden tener efectos funcionales a través de un efecto en la replicación, transcripción o traducción del ADNmt (Hudson et al., 2014; Marchington et al., 1996). Además, las variantes funcionales en regiones no codificantes suelen estar más asociadas a un riesgo incrementado de padecer una enfermedad que a un efecto protector contra esta (Hudson et al., 2014).

Prácticamente no existen reportes de rs28358578 en asociación a enfermedades, por lo que se puede considerar a esta SNV como un nuevo loci de susceptibilidad para LES aunque se necesitan replicar estos resultados en otras poblaciones de estudio para confirmar o refutar este hallazgo. Por otro lado, en un estudio de glaucoma en población africana este *locus* se usó solamente para comprobar la alta frecuencia del haplogrupo L2 en la muestra (Collins et al., 2016). Otro estudio, de cardiomiopatías, encontró esta variante en un paciente de 50 años con defectos en los complejos III y V de la fosforilación oxidativa (Marin-Garcia et al., 2000).

Dentro del gen *MT-RNR2* no solamente se codifica para el 16s ARNr, sino que además se encuentra una secuencia que codifica un péptido conocido como humanina (HN). Este polipéptido está compuesto de 24 residuos, y se encarga de suprimir la muerte celular ocasionada por genes FAD mutantes, el anticuerpo antiAPP y por el β -AP neurotóxico en las neuronas primarias, líneas celulares neuronales y células humanas de músculo liso cerebrovascular, por lo que usualmente está asociado a enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer. También ha sido detectado en músculo esquelético, hígado, testes y colon en etapas específicas del desarrollo, además de estar presente en plasma, líquido seminal y líquido cefalorraquídeo (Muzumdar et al., 2010) (Benaki et al., 2005). Adicionalmente, se ha encontrado que la humanina tiene efectos anti-apoptóticos y citoprotectores, tanto en células neuronales como en células no neuronales (Xiao et al., 2016), además de participar en la respuesta inflamatoria al estrés (Hazafa et al., 2021). Se describió por primera vez en el 2001, y se pensó como la clave para nuevos tratamientos neuroprotectores para la enfermedad de Alzheimer, e incluso su nombre denota su potencial para devolverle la “humanidad” a los pacientes con esta enfermedad (Hashimoto et al., 2001; Lee et al., 2013). Desde el descubrimiento en 2001 de HN se han encontrado ADNc con una homología de secuencia similar en distintas especies, como plantas, nemátodos y roedores, demostrando que esta molécula está conservada evolutivamente (Guo et al., 2003).

El papel anti-apoptótico de la humanina está mediado por un receptor extracelular, el complejo CNTFR- α /gp130/WSX-1 y mecanismos intracelulares (Muzumdar et al., 2010). Sus efectos citoprotectores se dan por su interacción con la proteína apoptótica Bax. Bax es una proteína de la familia Bcl-2, que está involucrada en procesos de muerte celular, que se encuentra de manera inactiva en el citoplasma y ante la aparición de señales apoptóticas y/o de estrés sufre cambios conformacionales que la llevan a trasladarse hacia la membrana externa de la mitocondria, donde promueve la liberación del citocromo c y otras proteínas apoptogénicas. HN sin embargo evita directamente que el blanco de Bax sea la mitocondria, inhibiendo este proceso. Se plantea que la acción de HN estabiliza la estructura de Bax evitando que ocurra el cambio conformacional (Guo et al., 2003).

HN puede unirse a otros miembros pro-apoptóticos de la familia Bcl-2, como Bid y Bim para la inactivación de estos. La humanina se une con alta afinidad y especificidad a IGFBP-3, proteína que induce apoptosis y detiene el crecimiento celular, de manera que *in vitro*, logra inhibir la apoptosis inducida por esta vía, además de que se considera que la interacción

de IGFBP-3 con HN pueda ser un factor regulador de la interacción Bax-HN (Ikonen et al., 2003; Lee et al., 2013). Además, esta molécula puede activar a STAT-3, Jnk, y tirosincinasas, lo que está ligado a la activación de vías de señalización como Jak-STAT, Akt, JNK, p38 MAPK y PI3K, por medio de las cuales HN puede ejercer su acción citoprotectora (Muzumdar et al., 2010).

Pese a que rs28358578 se localiza unos cientos de pares de base *downstream* de HN (entre los loci 2574 - 3335), no se puede descartar que esta variante se encuentre en LD con algún locus dentro de la secuencia de HN que tenga un efecto funcional. El efecto protector de HN y su relación con enfermedades degenerativas como Alzheimer y su planteamiento como tratamiento para la isquemia y la fibrosis miocárdica (Muzumdar et al., 2010; Qin et al., 2018), además de su función citoprotectora y antiapoptótica hacen a HN un objeto de estudio interesante para otras enfermedades como LES, donde la alteración de los mecanismos apoptóticos es importante para la patogénesis del padecimiento.

Por otra parte, se ha descrito que las variantes del ADNmt pueden causar una disminución en la producción de ATP e incrementar la producción de ROS potencialmente dañinas (Hahn & Zuryn, 2019). La producción anormal de ROS también se ha correlacionado con la activación anormal de la apoptosis celular, un mecanismo que se ha descrito dentro de la etiopatogénesis de LES.

Estas alteraciones de mecanismos antiapoptóticos son defectos en las vías de señalización de la apoptosis que interfieren con la digestión fagocítica de las células apoptóticas, lo que lleva a una acumulación inusual de este material. Estas células apoptóticas, al no ser fagocitadas de inmediato, entran a un segundo estado de muerte celular, esta vez por necrosis, perdiendo así su estado anti-inflamatorio, ganando por el contrario potencial inflamatorio al desintegrarse y liberar sus componentes citosólicos al exterior (Sheriff et al., 2004).

Conclusiones

El análisis de ancestría de los datos del genoma mitocondrial de la población pediátrica mexicana estudiada indica que existen diferencias en la ancestría del ADN nuclear y del ADN mitocondrial, donde los pacientes con LES exhiben una mayor ancestría de origen europeo, lo cual contrasta con lo reportado para población mestiza mexicana. Esta discordancia mitonuclear debe ser explorada más a fondo. Por otra parte, derivado del estudio de asociación se identificó una variante en el gen MT-RNR2, que codifica para el ARN ribosomal 16s, de nombre rs28358578, que está asociada a lupus eritematoso sistémico con un efecto protector significativo ($p = 0.007697$). Este SNP se encuentra en una mayor proporción en la muestra examinada (0.188) en comparación con cualquier población de referencia, sugiriendo que la variante rs28358578 podría haberse enriquecido en la población mexicana.

La manera en que esta variante confiere un efecto protector contra LES no está dilucidada, al localizarse en una secuencia exónica no codificante de un transcrito no codificante y se requiere de estudios para determinar tanto si es esta la variante causal (o si está asociada a una variante causal por desequilibrio de ligamiento) como el mecanismo de acción de esta, con el fin de entender completamente la patogenia del lupus eritematoso sistémico y el papel de la mitocondria en esta.

Referencias

- Abelson, A.-K., Delgado-Vega, A. M., Kozyrev, S. V., Sánchez, E., Velázquez-Cruz, R., Eriksson, N., Wojcik, J., Reddy, P. L., Lima, G., Alfonso, S. D., Migliaresi, S., Baca, V., Orozco, L., Witte, T., Ortego-Centeno, N., Group, A., Abderrahim, H., Pons-Estel, B. A., Gutiérrez, C., ... Alarcon-Riquelme, M. E. (2009). STAT4 Associates with SLE Through Two Independent Effects that Correlate with Gene Expression and Act Additively with IRF5 to Increase Risk. *Ann Rheum Dis*, 68(11). <https://doi.org/10.1136/ard.2008.097642>
- Achilli, A., Perego, U. A., Bravi, C. M., Coble, M. D., Kong, Q.-P., Woodward, S. R., Salas, A., Torroni, A., Rgen Bandelt, H.-J., & Macaulay, V. (2008). *The Phylogeny of the Four Pan-American MtDNA Haplogroups: Implications for Evolutionary and Disease Studies*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001764>
- Adhikari, D., Lee, I. W., Yuen, W. S., & Carroll, J. (2022). Oocyte mitochondria-key regulators of oocyte function and potential therapeutic targets for improving fertility. *Biology of reproduction*, 106(2), 366–377. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioac024>
- Agmon-Levin, N., Mosca, M., Petri, M., & Shoenfeld, Y. (2012). Systemic lupus erythematosus: One disease or many? *Autoimmunity Reviews*, 11, 593–595. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.10.020>
- Aarcón-Riquelme, M. E., Ziegler, J. T., Molineros, J., Howard, T. D., Moreno-Estrada, A., Sánchez-Rodríguez, E., Ainsworth, H. C., Ortiz-Tello, P., Comeau, M. E., Rasmussen, A., Kelly, J. A., Adler, A., Acevedo-Vázquez, E., Cucho, J. M., García-De La Torre, I., Cardiel, M. H., Miranda, P., Catoggio, L., Maradiaga-Ceceña, M., ... Jacob, C. O. (2016). GWAS in an Amerindian ancestry population reveals novel systemic lupus erythematosus risk loci and the role of European admixture HHS Public Access. *Arthritis Rheumatol*, 68(4), 932–943. <https://doi.org/10.1002/art.39504>
- Alberts, B. (2022). *Molecular biology of the cell* (Seventh edition). W. W. Norton & Company.
- Alexander, D. H., Novembre, J., & Lange, K. (2009). Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19(9), 1655–1664. <https://doi.org/10.1101/gr.094052.109>

- Al-Shobaili, H., & Rasheed, Z. (2013). Physicochemical and immunological studies on mitochondrial DNA modified by peroxynitrite: Implications of neo-epitopes of mitochondrial DNA in the etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 22(10), 1024–1037. <https://doi.org/10.1177/0961203313498803>
- Anderson, C. A., Pettersson, F. H., Clarke, G. M., Cardon, L. R., Morris, A. P., & Zondervan, K. T. (2010). Data quality control in genetic case-control association studies. *Nature Protocols*, 5(9), Article 9. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.116>
- Arora, D., Singh, A., Sharma, V., Singh Bhaduria, H., & Patel, R. B. (2015). HgsDb: Haplogroups Database to understand migration and molecular risk assessment. *Bioinformatics*, 11(6), 272.
- Baca, V., Velázquez-Cruz, R., Salas-Martínez, G., Espinosa-Rosales, F., Saldaña A-Alvarez, Y., & Orozco, L. (2006). Association analysis of the PTPN22 gene in childhood-onset systemic lupus erythematosus in Mexican population. *Genes and Immunity*, 7, 693–695. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364350>
- Barbhaiya, M., Tedeschi, S. K., Lu, B., Malspeis, S., Kreps, D., Sparks, J. A., Karlson, E. W., & Costenbader, K. H. (2018). Cigarette Smoking and the Risk of Systemic Lupus Erythematosus, Overall and by Anti-Double Stranded DNA Antibody Subtype, in the Nurses' Health Study Cohorts HHS Public Access. *Ann Rheum Dis*, 77(2), 196–202. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-211675>
- Benaki, D., Zikos, C., Evangelou, A., Livaniou, E., Vlassi, M., Mikros, E., & Pelecanou, M. (2005). Solution structure of humanin, a peptide against Alzheimer's disease-related neurotoxicity. *Biochem.Biophys.Res.Commun.*, 329, 152–160. <https://doi.org/10.2210/PDB1Y32/PDB>
- Berdanier, C. D. (Ed.). (2005). *Mitochondria in Health and Disease*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420028843>
- Bombardier, C., Gladman, D. D., Urowitz, M. B., Caron, D., Chang, C. H., Austin, A., Bell, A., Bloch, D. A., Corey, P. N., Decker, J. L., Esdaile, J., Fries, J. F., Ginzler, E. M., Goldsmith, C. H., Hochberg, M. C., Jones, J. V., Riche, N. G. H. L., Liang, M. H., Lockshin, M. D., ... Schur, P. H. (1992). Derivation of the sledai. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis & Rheumatism*, 35(6), 630–640. <https://doi.org/10.1002/art.1780350606>
- Boyapati, R. K., Tamborska, A., Dorward, D. A., & Ho, G.-T. (2017). Advances in the understanding of mitochondrial DNA as a pathogenic factor in inflammatory diseases. *F1000Research*, 6, 169. <https://doi.org/10.12688/f1000research.10397.1>

- Bryc, K., Velez, C., Karafet, T., Moreno-Estrada, A., Reynolds, A., Auton, A., Hammer, M., Bustamante, C. D., & Ostrer, H. (2010). Colloquium paper: Genome-wide patterns of population structure and admixture among Hispanic/Latino populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107 Suppl 2(Suppl 2), 8954–8961. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914618107>
- Burr, S. P., Pezet, M., & Chinnery, P. F. (2018). Mitochondrial DNA Heteroplasmy and Purifying Selection in the Mammalian Female Germ Line. *Development, Growth & Differentiation*, 60(1), 21–32. <https://doi.org/10.1111/dgd.12420>
- Cann, R. L., Stoneking, M., & Wilson, A. C. (1987). Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature*, 325(6099), 31–36. <https://doi.org/10.1038/325031a0>
- Chan, K., & Mok, C. (2013). Development of systemic lupus erythematosus in a male-to-female transsexual: The role of sex hormones revisited. *Lupus*, 22(13), 1399–1402. <https://doi.org/10.1177/0961203313500550>
- Chial, H., & Craig, J. (2008). *MtDNA and Mitochondrial Diseases*. Nature Education. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/mtdna-and-mitochondrial-diseases-903>
- Chiang, Y.-C., Huang, J.-L., Wang, C.-H., Lee, H.-C., Lee, M.-Y., & Hsiao, Y.-C. (2019). Symptom clustering in patients with childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Journal of Advanced Nursing*, 75(1), 54–62. <https://doi.org/10.1111/jan.13825>
- Chinnery, P. F., & Hudson, G. (2013). Mitochondrial genetics. *British medical bulletin*, 106(1), 135–159. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldt017>
- Cho, Y. M., Park, K. S., Pak, Y. K., Tanaka, M., & Lee, H. K. (2017). *Functional Difference of Mitochondrial Genome and Its Association with Traits of Common Complex Diseases in Humans* (p. 189845). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/189845>
- Collins, D. W., Gudiseva, H. V., Trachtman, B., Bowman, A. S., Sagaser, A., Sankar, P., Miller-Ellis, E., Lehman, A., Addis, V., & O'Brien, J. M. (2016). Association of primary open-angle glaucoma with mitochondrial variants and haplogroups common in African Americans. *Molecular vision*, 22, 454–471.
- Córdova, E., Velázquez-Cruz, R., Centeno, F., Baca, V., & Orozco, L. (2010). The NRF2 gene variant, -653G/A, is associated with nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 19(10), 1237–1242. <https://doi.org/10.1177/0961203310367917>

- Coronado Alvarado, C. D., Gámez Saiz, I. L., & Sotelo Cruz, N. (2018). Características clínicas y comorbilidades de pacientes con lupus eritematoso sistémico en niños y adultos. *Acta Pediátrica de México*, 1(1), 1. <https://doi.org/10.18233/apm1no1pp1-121535>
- D'souza, A. R., & Minczuk, M. (2018). Mitochondrial transcription and translation: Overview. *Essays in Biochemistry*, 62, 309–320. <https://doi.org/10.1042/EBC20170102>
- Deng, Y., & Tsao, B. P. (2010). Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in the genomic era. *Nature Reviews. Rheumatology*, 6(12), 683–692. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.176>
- Devlin, B., & Roeder, K. (1999). Genomic control for association studies. *Biometrics*, 55(4), 997–1004.
- Dowling, D. K. (2014). Evolutionary perspectives on the links between mitochondrial genotype and disease phenotype. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1840, 1393–1403.
- Ferreira, J. C. O. A., Trindade, V. C., Espada, G., Morel, Z., Bonfá, E., Magalhães, C. S., & Silva, C. A. (2018). Epidemiology and management practices for childhood-onset systemic lupus erythematosus patients: A survey in Latin America. *Clinical Rheumatology*, 37(12), 3299–3307. <https://doi.org/10.1007/s10067-018-4254-4>
- Fortuna, G., & Brennan, M. T. (2013). Systemic Lupus Erythematosus: Epidemiology, Pathophysiology, Manifestations, and Management. *Dental Clinics of North America*, 57(4), 631–655. <https://doi.org/10.1016/J.CDEN.2013.06.003>
- García-Ortiz, H., Velázquez-Cruz, R., Espinosa-Rosales, F., Jiménez-Morales, S., Baca, V., & Orozco, L. (2010). Association of TLR7 copy number variation with susceptibility to childhood-onset systemic lupus erythematosus in Mexican population. *Annals of the rheumatic diseases*, 69(10), 1861–1865. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.124313>
- Gergely, P., Grossman, C., Niland, B., Puskas, F., Neupane, H., Allam, F., Banki, K., Phillips, P. E., & Perl, A. (2000). Mitochondrial Hyperpolarization and ATP Depletion in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 46(1), 175–190. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200201\)46:1<175::AID](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200201)46:1<175::AID)
- Ghodke-Puranik, Y., & Niewold, T. B. (2015). Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity*, 64, 125–136. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2015.08.004>

- Gibbs, R. A., Boerwinkle, E., Doddapaneni, H., Han, Y., Korchina, V., Kovar, C., Lee, S., Muzny, D., Reid, J. G., Zhu, Y., Wang, J., Chang, Y., Feng, Q., Fang, X., Guo, X., Jian, M., Jiang, H., Jin, X., Lan, T., ... Rasheed, A. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526(7571), 68–74. <https://doi.org/10.1038/nature15393>
- Gilkerson, R., Bravo, L., Garcia, I., Gaytan, N., Herrera, A., Maldonado, A., & Quintanilla, B. (2013). The Mitochondrial Nucleoid: Integrating Mitochondrial DNA into Cellular Homeostasis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5(5), a011080. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011080>
- Goldstein, D. B., Allen, A., Keebler, J., Margulies, E. H., Petrou, S., Petrovski, S., & Sunyaev, S. (2013). Sequencing studies in human genetics: Design and interpretation. *Nat Rev Genet*, 14(7), 460–470. <https://doi.org/10.1038/nrg3455>
- González, L., Toloza, S., Mcgwin Jr, G., & Alarco, G. (2013). Ethnicity in systemic lupus erythematosus (SLE): Its influence on susceptibility and outcomes. *Lupus*, 22, 1214–1224. <https://doi.org/10.1177/0961203313502571>
- González-Naranjo, L. A., Betancur, O. M., Alarcón, G. S., Ugarte-Gil, M. F., Jaramillo-Aroyave, D., Wojdyla, D., Pons-Estel, G. J., Rondón-Herrera, F., Vásquez-Duque, G. M., Quintana-López, G., Da Silva, N. A., Tavares Brenol, J. C., Reyes-Llerena, G., Pascual-Ramos, V., Amigo, M. C., Massardo, L., Alfaro-Lozano, J., Segami, M. I., Esteva-Spinetti, M. H., ... Pons-Estel, B. A. (2016). Features associated with hematologic abnormalities and their impact in patients with systemic lupus erythematosus: Data from a multiethnic Latin American cohort. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 45(6), 675–683. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2015.11.003>
- Goulielmos, G. N., Zervou, M. I., Vazgiourakis, V. M., Ghodke-Puranik, Y., Garyfallos, A., & Niewold, T. B. (2018). The genetics and molecular pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) in populations of different ancestry. *Gene*, 668, 59–72. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.05.041>
- Gualtierotti, R., Biggioggero, M., Penatti, A. E., & Meroni, P. L. (2010). Updating on the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Reviews*, 10, 3–7.
- Guardado-Estrada, M., Juarez-Torres, E., Medina-Martinez, I., Wegier, A., Macías, A., Gomez, G., Cruz-Talonia, F., Roman-Bassaure, E., Piñero, D., Kofman-Alfaro, S., & Berumen, J. (2009). A great diversity of Amerindian mitochondrial DNA ancestry is present in the Mexican

- mestizo population. *Journal of Human Genetics*, 54, 695–705.
<https://doi.org/10.1038/jhg.2009.98>
- Guerra, S. G., Vyse, T. J., & Cunninghame Graham, D. S. (2012). The genetics of lupus: A functional perspective *S. Arthritis Research & Therapy*, 14. <http://arthritis-research.com/content/14/3/211>
- Guo, B., Zhai, D., Cabezas, E., Welsh, K., Nouraini, S., Satterthwait, A. C., & Reed, J. C. (2003). Humanin peptide suppresses apoptosis by interfering with Bax activation. *Nature*, 423. <https://doi.org/10.1038/nature01608>
- Hahn, A., & Zuryn, S. (2019). Mitochondrial Genome (mtDNA) Mutations that Generate Reactive Oxygen Species. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(9), 392. <https://doi.org/10.3390/antiox8090392>
- Hahn, B. H. (2012). The Pathogenesis of SLE. En *Dubois' Lupus Erythematosus and Related Syndromes: Eighth Edition*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1893-5.00003-0>
- Hashimoto, Y., Niikura, T., Tajima, H., Yasukawa, T., Sudo, H., Ito, Y., Kita, Y., Kawasumi, M., Kouyama, K., Doyu, M., Sobue, G., Koide, T., Tsuji, S., Lang, J., Kurokawa, K., & Nishimoto, I. (2001). A rescue factor abolishing neuronal cell death by a wide spectrum of familial Alzheimer's disease genes and A. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.101133498
- Hasni, S., Ippolito, A., & Illei, G. G. (2011). *Helicobacter pylori* and autoimmune diseases. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2011.01796.x>
- Hellwege, J., Keaton, J., Giri, A., Gao, X., Velez Edwards, D. R., & Edwards, T. L. (2018). Population Stratification in Genetic Association Studies HHS Public Access. *Curr Protoc Hum Genet*. <https://doi.org/10.1002/cphg.48>
- Hemminki, K., Fö Rsti, A., & Bermejo, J. L. (2008). The “Common Disease-Common Variant” Hypothesis and Familial Risks. *PLoS ONE*, 3(6), 2504. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002504>
- Hirschhorn, J. N., Lohmueller, K., Byrne, E., & Hirschhorn, K. (2002). A comprehensive review of genetic association studies. *Genetics in Medicine*, 4(2), 45–61. <https://doi.org/10.1097/00125817-200203000-00002>

- Hudson, G., Gomez-Duran, A., Wilson, I. J., & Chinnery, P. F. (2014). Recent Mitochondrial DNA Mutations Increase the Risk of Developing Common Late-Onset Human Diseases. *PLoS Genetics*, 10(5), e1004369. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004369>
- Ienco, E. C., Simoncini, C., Orsucci, D., Petrucci, L., Filosto, M., Mancuso, M., & Siciliano, G. (2011). May “Mitochondrial Eve” and Mitochondrial Haplogroups Play a Role in Neurodegeneration and Alzheimer’s Disease? *International Journal of Alzheimer’s Disease*, 2011, 11. <https://doi.org/10.4061/2011/709061>
- Ikonen, M., Liu, B., Hashimoto, Y., Ma, L., Lee, K.-W., Niikura, T., Nishimoto, I., & Cohen, P. (2003). *Interaction between the Alzheimer’s survival peptide humanin and insulin-like growth factor-binding protein 3 regulates cell survival and apoptosis*. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2135111100
- Ivanova, R., Lepage, V., Charron, D., & Schächter, F. (1998). Mitochondrial Genotype Associated with French Caucasian Centenarians. *Gerontology*, 44(6), 349–349. <https://doi.org/10.1159/000022041>
- Iyengar, S.K., Elston, R.C. (2007). The Genetic Basis of Complex Traits. In: Collins, A.R. (eds) Linkage Disequilibrium and Association Mapping. *Methods in Molecular Biology™*, vol 376. Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-389-9_6
- Jafri, K., Patterson, S. L., & Lanata, C. (2017). Central Nervous System Manifestations of Systemic Lupus Erythematosus. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 43(4), 531–545. <https://doi.org/10.1016/J.RDC.2017.06.003>
- Jiménez-Morales, S., Velázquez-Cruz, R., Ramírez-Bello, J., Bonilla-González, E., Romero-Hidalgo, S., Escamilla-Guerrero, G., Cuevas, F., Espinosa-Rosales, F., Martínez-Aguilar, N. E., Gómez-Vera, J., Baca, V., & Orozco, L. (2009). Tumor necrosis factor- α is a common genetic risk factor for asthma, juvenile rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus in a Mexican pediatric population. *Human Immunology*, 70(4), 251–256. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2009.01.027>
- Jönsen, A., Yu, X., Truedsson, L., Nived, O., Sturfelt, G., Ibrahim, S., & Bengtsson, A. A. (2009). Mitochondrial DNA polymorphisms are associated with susceptibility and phenotype of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 18(4), 309–312. <https://doi.org/10.1177/0961203308097477>

- Joo, Y. B., Park, S.-Y., Won, S., & Bae, S.-C. (2016). Differences in Clinical Features and Mortality between Childhood-onset and Adult-onset Systemic Lupus Erythematosus: A Prospective Single-center Study. *The Journal of Rheumatology*, 43(8), 1490–1497. <https://doi.org/10.3899/jrheum.151129>
- Kivisild, T. (2011). *Maternal ancestry and population history from whole mitochondrial genomes*. <https://doi.org/10.1186/s13323-015-0022-2>
- Kivity, S., Agmon-Levin, N., Blank, M., & Shoenfeld, Y. (2009). Infections and autoimmunity—Friends or foes? *Trends in Immunology*, 30(8), 409–414. <https://doi.org/10.1016/j.it.2009.05.005>
- Kozin, M. S., Kulakova, O. G., Kiselev, I. S., Balanovsky, O. P., Boyko, A. N., & Favorova, O. O. (2018). Variants of Mitochondrial Genome and Risk of Multiple Sclerosis Development in Russians. *Acta Naturae*, 10(4).
- Latz, E., Xiao, T. S., & Stutz, A. (2013). Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat Rev Immunol*, 13(6). <https://doi.org/10.1038/nri3452>
- Lee, C., Yen, K., & Cohen, P. (2013). Humanin: A harbinger of mitochondrial-derived peptides? *Trends Endocrinol Metab*, 24(5), 222–228. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.01.005>
- Lee, H.-T., Lin, C.-S., Chen, W.-S., Liao, H.-T., Tsai, C.-Y., & Wei, Y.-H. (2012). Leukocyte Mitochondrial DNA Alteration in Systemic Lupus Erythematosus and Its Relevance to the Susceptibility to Lupus Nephritis. *Int. J. Mol. Sci*, 13, 8853–8868. <https://doi.org/10.3390/ijms13078853>
- Lee, S., Abecasis, G. R., Boehnke, M., & Lin, X. (2014). Rare-Variant Association Analysis: Study Designs and Statistical Tests. *The American Journal of Human Genetics*, 95, 5–23. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2014.06.009>
- Lee, S., Choi, S., Qiao, D., Cho, M., Silverman, E. K., Park, T., & Won, S. (2018). WISARD: Workbench for integrated superfast association studies for related datasets. *BMC Medical Genomics*, 11(Suppl 2), 39. <https://doi.org/10.1186/s12920-018-0345-y>
- Lee, Y. H. (2015). Meta-Analysis of Genetic Association Studies. *Ann Lab Med*, 35, 283–287. <https://doi.org/10.3343/alm.2015.35.3.283>

- Leishangthem, B. D., Sharma, A., & Bhatnagar, A. (2016). Role of altered mitochondria functions in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 25(3), 272–281. <https://doi.org/10.1177/0961203315605370>
- Lewis, C. M., & Knight, J. (2012). Introduction to genetic association studies. *Cold Spring Harbor Protocols*, 7(3), 297–306. <https://doi.org/10.1101/pdb.top068163>
- Lewis, M. J., & Jawad, A. S. (2016). The effect of ethnicity and genetic ancestry on the epidemiology, clinical features and outcome of systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*, 56(suppl_1), kew399. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kew399>
- Li, B., & Leal, S. M. (2008). Methods for Detecting Associations with Rare Variants for Common Diseases: Application to Analysis of Sequence Data. *American Journal of Human Genetics*, 83(3), 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2008.06.024>
- Lisnevskaja, L., Murphy, G., & Isenberg, D. (2014). Systemic lupus erythematosus. *The Lancet*, 384(9957), 1878–1888. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60128-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60128-8)
- Liu, J., Lewinger, J. P., Gilliland, F. D., Gauderman, W. J., & Conti, D. V. (2013). Practice of Epidemiology Confounding and Heterogeneity in Genetic Association Studies with Admixed Populations. *American Journal of Epidemiology*, 177(4), 351–360. <https://doi.org/10.1093/aje/kws234>
- Liu, Y., Nyunoya, T., Leng, S., Belinsky, S. A., Tesfaigzi, Y., & Bruse, S. (2013). Softwares and methods for estimating genetic ancestry in human populations. *Human Genomics*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/1479-7364-7-1>
- López-López, L., Nieves-Plaza, M., Del, M., Castro, R., Font, Y. M., Torres-Ramos, C., Vilá, L. M., & Ayala-Peña, S. (2014). Mitochondrial DNA damage is associated with damage accrual and disease duration in patients with Systemic Lupus Erythematosus NIH Public Access. *Lupus*, 23(11), 1133–1141. <https://doi.org/10.1177/0961203314537697>
- Lott, M. T., Leipzig, J. N., Derbeneva, O., Xie, H. M., Chalkia, D., Sarmady, M., Procaccio, V., & Wallace, D. C. (2013). MtDNA Variation and Analysis Using Mitomap and Mitomaster. *Current protocols in bioinformatics*, 44, 1.23.1-26. <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi0123s44>

- Mak, A., & Tay, S. H. (2014). Environmental Factors, Toxicants and Systemic Lupus Erythematosus. *OPEN ACCESS Int. J. Mol. Sci*, 15, 15. <https://doi.org/10.3390/ijms150916043>
- Marchington, D. R., Poulton, J., Sellar, A., & Holt, I. J. (1996). Do sequence variants in the major non-coding region of the mitochondrial genome influence mitochondrial mutations associated with disease? *Human Molecular Genetics*, 5(4).
- Marin-Garcia, J., Goldenthal, M. J., Ananthkrishnan, R., & Pierpont, M. E. (2000). The complete sequence of mtDNA genes in idiopathic dilated cardiomyopathy shows novel missense and tRNA mutations. *Journal of cardiac failure*, 6(4), 321–329. <https://doi.org/10.1054/jcaf.2000.19232>
- Martin, W. (2010). Evolutionary origins of metabolic compartmentalization in eukaryotes. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1541), 847–855. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0252>
- Mercer, T. R., Neph, S., Dinger, M. E., Crawford, J., Smith, M. A., Shearwood, A.-M. J., Haugen, E., Bracken, C. P., Rackham, O., Stamatoyannopoulos, J. A., Filipovska, A., & Mattick, J. S. (2011). The Human Mitochondrial Transcriptome. *Cell*, 146, 645–658. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.06.051>
- Mina, R., & Brunner, H. I. (2009). *Pediatric Lupus-Are There Differences in Presentation, Genetics, Response to Therapy, Damage Accrual Compared to Adult Lupus?* <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2009.12.012>
- Miniño, M. (2008). Índice de actividad lúpica y tratamiento del lupus eritematoso en dermatología. *Dermatología Rev Mex*, 52(1).
- Mitchell, S. L., Hall, J. B., Goodloe, R. J., Boston, J., Farber-Eger, E., Pendergrass, S. A., Bush, W. S., & Crawford, D. C. (2014). Investigating the relationship between mitochondrial genetic variation and cardiovascular-related traits to develop a framework for mitochondrial phenome-wide association studies. *BioData Mining*, 7, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1756-0381-7-6>
- Moreno, A., & Sandoval, K. (2013). Diversidad genómica en México. Pasado indígena y mestizaje. *Cuicuilco*, 20(58).
- Muller, S., & Radic, M. (2016). Oxidation and mitochondrial origin of NET DNA in the pathogenesis of lupus. *Nature Medicine*, 22(2), 126–127. <https://doi.org/10.1038/nm.4044>

- Muzumdar, R. H., Huffman, D. M., Calvert, J. W., Jha, S., Weinberg, Y., Cui, L., Nemkal, A., Atzmon, G., Klein, L., Gundewar, S., Ji, S. Y., Lavu, M., Predmore, B. L., Lefer, D. J., & Muzumdar, R. (2010). Acute Humanin Therapy Attenuates Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury in Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 30(10), 1940–1948. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.205997>
- National Center for Biotechnology Information (NCBI) (2022). Accession No. NC_012920.1, Homo sapiens mitochondrion, complete genome. Maryland, Estados Unidos: National Library of Medicine. Recuperado el 21 de febrero de 2023 de: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/NC_012920.1
- Ney P. A. (2011). Normal and disordered reticulocyte maturation. *Current opinion in hematology*, 18(3), 152–157. <https://doi.org/10.1097/MOH.0b013e328345213e>
- Norgarrd, K. (2008). *Genetic Variation and Disease: GWAS*. Nature Education. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/genetic-variation-and-disease-gwas-682>
- O'Neill, S., & Cervera, R. (2010). Systemic lupus erythematosus. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 24(6), 841–855. <https://doi.org/10.1016/J.BERH.2010.10.006>
- Olmos-García, F. X., Suárez-Larios, L. M., Velázquez Contreras, C. A., Sotelo-Cruz, N., & Manjarrez-Orduño, N. (2014). Lupus Eritematoso Sistémico en la Edad Pediátrica. *Boletín Clínico del Hospital Infantil del Estado de Sonora*, 31(2), 101–106.
- Parks, C. G., De Souza, A., Santos, E., Barbhaiya, M., Costenbader, K. H., & Costenbader, K. H. (2017). Understanding the role of environmental factors in the development of systemic lupus erythematosus. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 31, 306–320. <https://doi.org/10.1016/j.berh.2017.09.005>
- Pavón-Sánchez, J. M., & Sánchez-Sánchez, L. M. (2013). Evolución de los pacientes pediátricos con lupus eritematoso sistémico tratados con rituximab. *Gaceta Médica de México*, 149(5), 492–496.
- Pelaez-Ballestas, I., Sanin, L. H., Moreno-Montoya, J., Alvarez-Nemegyei, J., Burgos-Vargas, R., Garza-Elizondo, M., Rodriguez-Amado, J., Goycochea-Robles, M.-V., Madariaga, M., Zamudio, J., Santana, N., & Cardiel, M. H. (2011). Epidemiology of the Rheumatic Diseases in Mexico. A Study of 5 Regions Based on the COPCORD Methodology. *The Journal of Rheumatology Supplement*, 86(0), 3–8. <https://doi.org/10.3899/jrheum.100951>

- Perl, A. (2010). Mechanisms and Consequences of Mitochondrial Dysfunction and Oxidative Stress in T-Cells of Patients with SLE. En *Systemic Lupus Erythematosus* (pp. 177–189). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374994-9.10010-5>
- Petri, M. (2008). Sex hormones and systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 17(5), 412–415.
- Petri, M., Bello, K. J., Fang, H., & Magder, L. S. (2013). Vitamin D in systemic lupus erythematosus: Modest association with disease activity and the urine protein-to-creatinine ratio. *Arthritis and Rheumatism*, 65(7), 1865–1871. <https://doi.org/10.1002/art.37953>
- Petri, M., Orbai, A.-M., Alarcón, G. S., Gordon, C., Merrill, J. T., Fortin, P. R., Bruce, I. N., Isenberg, D., Wallace, D. J., Nived, O., Sturfelt, G., Ramsey-Goldman, R., Bae, S.-C., Hanly, J. G., Sánchez-Guerrero, J., Clarke, A., Aranow, C., Manzi, S., Urowitz, M., ... Magder, L. S. (2012). Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism*, 64(8), 2677–2686. <https://doi.org/10.1002/art.34473>
- Picard, M., & Sandi, C. (2021). The social nature of mitochondria: Implications for human health. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 120, 595–610. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.04.017>
- Pons-Estel, G., Catoggio, L., Cardiel, M., Bonfa, E., Caeiro, F., Sato, E., Massardo, L., & Molina-Restrepo, J. (2015). Lupus in Latin-American patients: Lessons from the GLADEL cohort. *Lupus*, 24, 536–545. <https://doi.org/10.1177/0961203314567753>
- Pons-Estel, G., Saurit, V., Alarcón, G., Hachuel, L., Boggio, G., Wojdyla, D., Alfaro-Lozano, J., de la Torre, I. G., Massardo, L., Esteva-Spinetti, M., Guibert-Toledano, M., Gómez, L. R., Costallat, L. L., del Pozo, M. S., Silveira, L., Cavalcanti, F., & Pons-Estel, B. (2012). The impact of rural residency on the expression and outcome of systemic lupus erythematosus: Data from a multiethnic Latin American cohort. *Lupus*, 21(13), 1397–1404. <https://doi.org/10.1177/0961203312458465>
- Porcelli, A. M., Angelin, A., Ghelli, A., Mariani, E., Martinuzzi, A., Carelli, V., Petronilli, V., Bernardi, P., & Rugolo, M. (2009). Respiratory complex I dysfunction due to mitochondrial DNA mutations shifts the voltage threshold for opening of the permeability transition pore toward resting levels. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(4), 2045–2052. <https://doi.org/10.1074/jbc.M807321200>

- Price, A. L., Patterson, N. J., Plenge, R. M., Weinblatt, M. E., Shadick, N. A., & Reich, D. (2006). Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 38(8), 904–909. <https://doi.org/10.1038/ng1847>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945–959. <https://doi.org/10.1002/spe.4380060305>
- Purcell, S. (2007). *PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis*. <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>
- Qin, Q., Mehta, H., Yen, K., Navarrete, G., Brandhorst, S., Wan, J., Delrio, S., Zhang, X., Lerman, L. O., Cohen, P., & Lerman, A. (2018). Chronic treatment with the mitochondrial peptide humanin prevents age-related myocardial fibrosis in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 315(5), H1127–H1136. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00685.2017>
- Ramírez Gómez, L., Uribe Uribe, O., Osio Uribe, O., Grisales Romero, H., Cardiel, M., Wojdyla, D., Pons-Estel, B., Grupo Latinoamericano de Estudio del Lupus (GLADEL), Catoggio, L. J., Soriano, E. R., Imamura, P. M., Manni, J. A., Grimaudo, S., Sarano, J., Maldonado-Cocco, J. A., Arriola, M. S., Gómez, G., García, M. A., Marcos, A. I., ... Vivas, J. (2008). Childhood systemic lupus erythematosus in Latin America. The GLADEL experience in 230 children. *Lupus*, 17(6), 596–604. <https://doi.org/10.1177/0961203307088006>
- Reilly, B., Li, B., Kirschfink, M., Isaac, L., Catarina, A., & Macedo, L. (2016). *Systemic Lupus erythematosus and Deficiencies of early Components of the Complement Classical Pathway*. 7, 55. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00055>
- Romero-Díaz, J., Isenberg, D., & Ramsey-Goldman, R. (2011). Measures of Adult Systemic Lupus Erythematosus: Updated Version of British Isles Lupus Assessment Group (BILAG 2004), European Consensus Lupus Activity Measurements (ECLAM), Systemic Lupus Activity Measure, Revised (SLAM-R), Systemic Lupus Activity Questi. *Arthritis Care Res (Hoboken Arthritis Care Res)*, 63(11). <https://doi.org/10.1002/acr.20572>
- Rongvaux, A. (2018). Innate immunity and tolerance toward mitochondria. *Mitochondrion*, 41, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2017.10.007>
- Salazar-Flores, J., Zuñiga-Chiquette, F., Rubi-Castellanos, R., Álvarez-Miranda, J. L., Zetina-Hernández, A., Martínez-Sevilla, V. M., González-Andrade, F., Corach, D., Vullo, C.,

- Álvarez, J. C., Lorente, J. A., Sánchez-Diz, P., Herrera, R. J., Cerda-Flores, R. M., Muñoz-Valle, J. F., & Rangel-Villalobos, H. (2015). Admixture and genetic relationships of Mexican Mestizos regarding Latin American and Caribbean populations based on 13 CODIS-STRs. *HOMO - Journal of Comparative Human Biology*, 66(1), 44–59. <https://doi.org/10.1016/j.ichb.2014.08.005>
- Sawalha, A. H., Webb, R., Han, S., Kelly, J. A., & Kaufman, K. M. (2008). Common Variants within MECP2 Confer Risk of Systemic Lupus Erythematosus. *PLoS ONE*, 3(3), 1727. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001727>
- Sawalha, A., & Richardson, B. (2006). DNA Methylation in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Current Pharmacogenomics*, 3(1), 73–78. <https://doi.org/10.2174/1570160053174983>
- Schapira, A. H. V. (2006). Mitochondrial disease. *The Lancet*, 368, 70–82. [https://doi.org/doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68970-8](https://doi.org/doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68970-8)
- Schon, E. A. (2015). The Mitochondrial Genome. En *Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease* (pp. 259–269). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410529-4.00022-X>
- Shah, D., Sah, S., Wanchu, A., Wu, M. X., & Bhatnagar, A. (2013). Altered redox state and apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Immunobiology*, 218, 620–627.
- Sheriff, A., Gaip, U. S., Voll, R. E., Kalden, J. R., & Herrmann, M. (2004). Apoptosis and systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin N Am*, 30, 505–527.
- Stewart, J. B., & Chinnery, P. F. (2015). The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: Implications for human health and disease. *Nature Reviews Genetics*, 16(9), 530–542. <https://doi.org/10.1038/nrg3966>
- Szumila, M. (2010). Explaining Odds Ratio. *J Can Acad Child Adolesc Psychiatry*, 19(3), 227–229. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.08.134>
- Taanman, J.-W. (1999). The mitochondrial genome: Structure, transcription, translation and replication. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1410(2), 103–123. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(98\)00161-3](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(98)00161-3)
- Tang, Y., Wang, L., Zhu, M., Yang, M., Zhong, K., Du, Q., Zhang, H., & Gui, M. (2015). Association of mtDNA M/N haplogroups with systemic lupus erythematosus: A case-control

study of Han Chinese women. *Scientific Reports*, 5(1), 10817.
<https://doi.org/10.1038/srep10817>

Taylor, R. W., & Turnbull, D. M. (2007). Mitochondrial DNA Transcription: Regulating the Power Supply. *Cell*, 130(2), 211–213. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.07.002>

Teruel, M., & Alarcón-Riquelme, M. E. (2016). The genetic basis of systemic lupus erythematosus: What are the risk factors and what have we learned. *Journal of Autoimmunity*, 74, 161–175.

The 1000 Genomes Project Consortium. (2015). A global reference for human genetic variation The 1000 Genomes Project Consortium*. *Nature*, 526. <https://doi.org/10.1038/nature15393>

Tuppen, H. A. L., Blakely, E. L., Turnbull, D. M., & Taylor, R. W. (2009). *Mitochondrial DNA mutations and human disease*. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2009.09.005>

Uribe, A. G., Vilá, L. M., McGwin, G., Sanchez, M. L., Reveille, J. D., & Alarcón, G. S. (2004). The Systemic Lupus Activity Measure-revised, the Mexican Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI), and a modified SLEDAI-2K are adequate instruments to measure disease activity in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology*, 31(10), 1934 LP – 1940.

Valencia Pacheco, G., Nakazawa Ueji, Y. E., Rodríguez Dzul, E. A., Angulo Ramírez, A. V., López Villanueva, R. F., Quintal Ortiz, I. G., Rosado Paredes, E. P., & Médica, C. (2017). Serological and molecular analysis of parvovirus B19 infection in Mayan women with systemic lupus erythematosus in Mexico. *Colombia Médica*, 48(48).
<https://doi.org/10.25100/cm.v48i3.2981>

van Oven, M. (2015). PhyloTree Build 17: Growing the human mitochondrial DNA tree. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series*, 5, e392–e394.
<https://doi.org/10.1016/J.FSIGSS.2015.09.155>

Velázquez-Cruz, R., Orozco, L., Espinosa-Rosales, F., Carreño-Manjarrez, R., Solís-Vallejo, E., López-Lara, N. D., Ruiz-López, I. K., Rodríguez-Lozano, A. L., Estrada-Gil, J. K., Jiménez-Sánchez, G., & Baca, V. (2007). Association of PDCD1 polymorphisms with childhood-onset systemic lupus erythematosus. *European Journal of Human Genetics*, 15, 336–341.
<https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201767>

- Velázquez-Cruz, R., Velázquez-Cruz, R., Jiménez-Morales, S., Ramírez-Bello, J., Aguilar-Delfín, I., Salas-Martínez, G., Ruíz, V. B., Orozco, L. O., & Sur, P. (2012). *Lupus eritematoso sistémico (LES): Genómica de la enfermedad*. 148, 371–380.
- Verma, M., & Kumar, D. (2007). Application of mitochondrial genome information in cancer epidemiology. *Clinica Chimica Acta*, 383, 41–50. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.cca.2007.04.018>
- Vissing, J. (2019). Paternal comeback in mitochondrial DNA inheritance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201821192. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1821192116>
- Vyshkina, T., Sylvester, A., Sadiq, S., Bonilla, E., Canter, J. A., Perl, A., & Kalman, B. (2008). Association of common mitochondrial DNA variants with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 129(1), 31–35. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2008.07.011>
- Wahren-Herlenius, M., & Dörner, T. (2013). Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. *The Lancet*, 382.
- Wang, J., Kay, A. B., Fletcher, J., Formica, M. K., & McAlindon, T. E. (2008). *Is lipstick associated with the development of systemic lupus erythematosus (SLE)?* <https://doi.org/10.1007/s10067-008-0937-6>
- Wang, J., Pan, H.-F., Ye, D.-Q., Su, H., & Li, X.-P. (2008). Moderate alcohol drinking might be protective for systemic lupus erythematosus: A systematic review and meta-analysis. *Clinical Rheumatology*, 27(12), 1557–1563. <https://doi.org/10.1007/s10067-008-1004-z>
- Weissensteiner, H., Pacher, D., Kloss-Brandstätter, A., Forer, L., Specht, G., Bandelt, H.-J., Kronenberg, F., Salas, A., & Schönherr, S. (2016). HaploGrep 2: Mitochondrial haplogroup classification in the era of high-throughput sequencing. *Nucleic Acids Research*, 44(W1), W58–W63. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw233>
- West, A. P., & Shadel, G. S. (2017). Mitochondrial DNA in innate immune responses and inflammatory pathology. *Nature Reviews Immunology*, 17(6), Article 6. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.21>
- West, A. P., Shadel, G. S., & Ghosh, S. (2011). Mitochondria in innate immune responses. *Nature Reviews Immunology*, 11(6), 389–402. <https://doi.org/10.1038/nri2975>

- White, D. J., Wolff, J. N., Pierson, M., & Gemmell, N. J. (2008). Revealing the hidden complexities of mtDNA inheritance. *Molecular Ecology*, 17(23), 4925–4942. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03982.x>
- Xiao, J., Kim, S.-J., Cohen, P., & Yen, K. (2016). Humanin: Functional Interfaces with IGF-I. *Growth Hormone & IGF Research: Official Journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*, 29, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.ghir.2016.03.005>
- Yeoh, S.-A., Dias, S. S., & Isenberg, D. A. (2018). Advances in systemic lupus erythematosus. *Medicine*, 46(2), 84–92. <https://doi.org/10.1016/J.MPMED.2017.11.010>
- Youssef, D. M., Tawfek, D. M., Mohammed, A. M., Mohammed, R., & Khalifa, N. A. (2015). Brief Communication Pediatric Systemic Lupus Erythematosus in a Single Nephrology Unit. *En Saudi J Kidney Dis Transpl* (Vol. 26, Número 2, pp. 314–319). <http://www.sjkd.org>
- Yu, C., & Chang, C. (2014). Diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus: A critical review. *Journal of Autoimmunity*, 48–49, 10–13. <https://doi.org/10.1016/J.JAUT.2014.01.004>
- Yu, X., Wester-Rosenlöf, L., Gimsa, U., Holzhueter, S.-A., Marques, A., Jonas, L., Hagenow, K., Kunz, M., Nizze, H., Tiedge, M., Holmdahl, R., & Ibrahim, S. M. (2009). The mtDNA nt7778 G/T polymorphism affects autoimmune diseases and reproductive performance in the mouse. *Human Molecular Genetics*, 18(24), 4689–4698. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp432>
- Zaidi, A. A., & Makova, K. D. (2019). Investigating mitonuclear interactions in human admixed populations. *Nature Ecology & Evolution* 2019 3:2, 3(2), 213–222. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0766-1>
- Zerbino, D. R., Achuthan, P., Akanni, W., Amode, M. R., Barrell, D., Bhai, J., Billis, K., Cummins, C., Gall, A., Girón, C. G., Gil, L., Gordon, L., Haggerty, L., Haskell, E., Hourlier, T., Izuogu, O. G., Janacek, S. H., Juettemann, T., To, J. K., ... Flicek, P. (2018). Ensembl 2018. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D754–D761. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1098>
- Zhang, F., & Lupski, J. R. (2015). *Non-coding genetic variants in human disease*. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddv259>

Zonana-Nacach, A., Rodríguez-Guzmán, L. M., Jiménez-Balderas, F. J., Camargo-Coronel, A., Escobedo-de la Peña, J., & Fraga, A. (2002). Factores de riesgo relacionados con lupus eritematoso sistémico en población mexicana. *Salud Pública de México*, *44*(3), 213–218.
<https://doi.org/10.1590/S0036-36342002000300004>