

11262
26

UNAM POSGRADO



**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION**

*HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA CENTRO MEDICO LA RAZA
**DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGIA Y REUMATOLOGIA, INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS
MEDICAS Y NUTRICION "SALVADOR SUBIRAN"

***DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA MOLECULAR, INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA IGNACIO CHAVEZ
**** INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

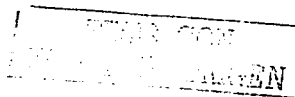
**FRECUENCIA DE ANTIGENOS DE HISTOCOMPATIBILIDAD CLASE II,
EN UNA POBLACION DE NIÑOS MEXICANOS CON LUPUS
ERITEMATOSO GENERALIZADO**

T E S I S
PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS MEDICAS
P R E S E N T A:
DRA. YOLANDA LUNA SÁNCHEZ

TUTOR: M. C. JULIO GRANADOS ARRIOLA**
COTUTOR: DR. C. B. GILBERTO VARGAS ALARCON***
Q. GUADALUPE HERNÁNDEZ PACHECO***
DR. C. B. JOAQUÍN ZÚÑIGA RAMOS****

COLABORADORES: DRA. GUADALUPE LADRON DE GUEVARA SOSA*
DRA. EUNICE SOLIS VALLEJO*

MÉXICO, D. F.



2003



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

INDICE

	Páginas
INDICE GENERAL	2
RESUMEN	3
JUSTIFICACION	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
OBJETIVO	12
MATERIAL Y METODOS	13
RESULTADOS	23
DISCUSION	26
CONCLUSION	29
ANEXOS	30
BIBLIOGRAFIA	41

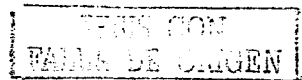
Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo excepcional.

NOMBRE: Selanda Luna

Sánchez

FECHA: 27 Junio 03.

FIRMA: 



RESUMEN

Introducción

La presentación clínica de Lupus Eritematoso Generalizado (LEG) en niños suele ser diferente con respecto a los adultos, con afección a órganos vitales en gran porcentaje a diferencia de lo que ocurre en la población adulta. Es probable esto se deba a diferencias inmunogenéticas y serológicas con respecto al paciente adulto, pero hasta la fecha no se ha podido encontrar respuesta a esta duda. En México, el LEG en adultos se ha asociado con los antígenos de histocompatibilidad HLA-DR3 y HLA-DR7, pero no se conoce su asociación en pacientes pediátricos.

Objetivo.

Determinar la frecuencia génica de los antígenos de histocompatibilidad Clase II (HLA-DR y HLA-DQB1), en una población de niños mexicanos con Lupus Eritematoso Generalizado.

Material y Métodos: Se realizó un estudio descriptivo y prospectivo, en el cual se capturaron pacientes pediátricos que cumplieran con los criterios de LEG de la consulta de Reumatología Pediátrica del Centro Médico La Raza, en el período de marzo del 2000 a marzo del 2001. Se analizaron variables demográficas, clínicas, de evolución y de desenlace; se les realizó tipificación de los alelos HLA-DR y HLA-DQB1, mediante PCR con oligonucleótidos de secuencia específica.

Resultados: Se incluyeron a 54 niños (con una proporción mujer a hombre de 6.7:1) y edad promedio al momento del diagnóstico de LEG de 11.9 años (intervalo de 5 a 16 años) Los principales síntomas clínicos al realizar el diagnóstico fueron: artritis (61%), eritema malar (55.5%), caída de cabello (44%), fiebre (43%), proteinuria (39%) edema de cara y extremidades (24%). La forma de presentación clínica al momento de realizar el diagnóstico de LEG en la población pediátrica estudiada fue: Mucoarticular en 38 pacientes (70%), Renal en 21 pacientes (39%), Hematológico en 14 pacientes (26%), Sistema Nervioso Central en 7 pacientes (15%)

La frecuencia génica (fg) de los alelos HLA-DR y HLA-DQB1 fue discretamente diferente a la reportada previamente en los adultos Mexicanos, se esperaba encontrar elevado DR3 en la población pediátrica, pero su frecuencia génica fue baja (0.064 en los niños Vs. 0.117 en los adultos), pero a diferencia del alelo HLA-DR8 se pensaba encontrar bajo o muy similar que en la población adulta y se encontró alto (frecuencia génica de 0.175 en niños Vs. 0.092 en adultos. Al tener los resultados previos se contrastaron los resultados con la población sana de mestizos mexicanos que había servido de grupo control en la población adulta y se encontró que los siguientes haplotipos presentaban diferencia estadística: HLADR2/DQB*0602 (p = 0.0035, OR = 3.65, IC 1.45- 9.34), seguido por HLA-DR11/DQB*0301 (p = 0.0000075, OR = 3.04 IC 2.58 – 3.58).

Conclusion: Este trabajo muestra que el haplotipo HLADR2/DQB1*0602 podría ser considerado un marcador de susceptibilidad genética al LEG pediátrico en México. Es posible que el aumento en el grado de mestizaje de las nuevas generaciones, ha favorecido en los Mexicanos un incremento en el riesgo para desarrollar LEG.

Palabras clave: Lupus Eritematoso Generalizado; Complejo Mayor de Histocompatibilidad; niños; susceptibilidad.

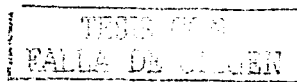


INTRODUCCIÓN

El Lupus Eritematoso Sistémico o también conocido como generalizado (LES) es un proceso inflamatorio crónico difuso con afectación multisistémica, de etiología desconocida; se asocia con trastornos de mecanismos normales de inmunorregulación, causado por interacción de factores genéticos (alelos del sistema HLA), hormonales (incremento de hidroxilación de estrona a 16-hidroxiestrona), ambientales (exposición a la luz solar), infecciosos (parvo virus, citomegalovirus), anormalidades inmunológicas (deficiencia de C4), medicamentos (hidralazina, difenilhidantoína, clorpromacina); cuya interacción tal vez induzcan alteraciones del sistema de inmunorregulación.(1, 2,3)

El LES es considerado el prototipo de las enfermedades autoinmunes; para establecer el diagnóstico y clasificación de esta enfermedad existen criterios establecidos por Colegio Americano de Reumatología (ACR), los cuales también se aplican a la población pediátrica con LES, encontrando que tienen una sensibilidad del 96% y una especificidad del 100% en niños. (4, 5)

En el adulto es una enfermedad más frecuente en la mujer, en una proporción de 9:1 con respecto al hombre. A diferencia de la edad pediátrica, durante la primera década de la vida se presenta en una proporción niñas: niños de 3:1, incrementando a 6:1 en la adolescencia. Puede presentarse en los extremos de la vida, pero la mayor incidencia es en la edad reproductiva, entre los 15 años a 40 años de vida. Aproximadamente el 25% de todos los casos de LES ocurren en las dos primeras décadas de la vida y es extraordinariamente rara en niños menores de 5 años, después de esta edad su incidencia crece progresivamente hasta la adolescencia.(6,7,8)

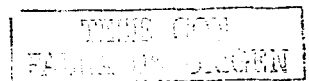


Se sabe que del 10% al 12% de los niños con LES tienen un familiar de primer grado afectado. Además se ha encontrado una mayor incidencia de esta enfermedad en gemelos monocigóticos 24% al 69% comparados con dicigóticos 2% al 9%.(9, 10)

En México no contamos con bases estadísticas confiables para conocer la prevalencia e incidencia real de LES, estudios realizados en adultos con LES han estimado una prevalencia de 12 a 50 casos por 100,000 personas y una incidencia de 2.0 a 7.6 casos por 100,000 personas, en Estados Unidos. (5,10)

Con respecto al factor genético, el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) parece contribuir de manera discreta, está localizado en el brazo corto del cromosoma 6; considerado como una región con genes polimórficos cuyos productos se expresan en la superficie de las células, proporcionan un sistema que une péptidos proteicos que son reconocidos por el receptor de los linfocitos T. Los genes HLA se heredan siguiendo la primera Ley de Mendel, en forma codominante. El genotipo consiste de dos antígenos de cada locus y cada individuo es portador de 12 antígenos de histocompatibilidad HLA, seis de cada región provenientes de un haplotipo materno y seis del paterno. (11, 12)

Existen tres tipos diferentes de productos de los genes del complejo principal de histocompatibilidad llamados de la clase I, clase II y clase III. Los péptidos generados en el citosol (generalmente procedentes de proteínas sintetizadas endógenamente) se asocian con moléculas de la clase I, dentro de los cuales encontramos a los antígenos HLA-A, HLA-B y HLA-C. Los péptidos generados en los endosomas y lisosomas a partir de las proteínas fagocitadas (generalmente exógenamente) se unen a las moléculas de Clase II, los cuales se dividen en los siguientes grupos: HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP y HLA-DM. Las moléculas de la clase III están codificadas por genes situados entre regiones clase I y clase



II, gobiernan la síntesis de los factores del complemento C2, C4A, C4B de la vía clásica y el factor B de la vía alterna. (13,14, 15,16)

Se han descrito algunos alelos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) como marcadores de susceptibilidad a enfermedades mediante estudios de población. El término de marcador de susceptibilidad, se refiere a la asociación estadística del alelo del MHC con la enfermedad; la asociación implica un riesgo relativo, más no que éste gen se encuentre directamente implicado en la fisiopatogenia de la enfermedad. (17,18)

Con respecto a los estudios del MHC con LES fue en la década de los 70's, cuando se reportó su asociación con el antígeno HLA-B8 de la clase I, pero más tarde se verificó que el efecto sobre B8 era debido al desequilibrio de enlace con DR3. Posteriormente se demostró asociación de DR3 en la población Caucásica (Australia, Ingleses-Canadienses, Checoslovaquia, Francia, Alemania, Hungría, Italia, Escandinavos y Nueva Zelanda. Ambos haplotipos DR2 y DR3 son asociados con LES en Bulgaria, Rusia y los Estados Unidos; DR2 en Griegos. El LES en orientales es asociado con DR2 y DR3 en China y DR2 en Japón, Corea y Singapur. Además se han asociado algunos autoanticuerpos con MHC en el LES como: anti-DNA con DR2, DR3, DR7 y DQ beta; anti-Sm se ha asociado con DR2, DR-4, DR-7 y DQ6; el anti- Ro se ha asociado con DR-2, DR-4 y DQ beta; el anti- La se ha asociado con DR-3 y DR-8 y los anticuerpos antifosfolípidos se han asociado con DR-4, DR-7 y DQ 6 y 7. (19, 20)

En 1982 Ahearn realizó un estudio en población adulta para conocer la interrelación de características serológicas y clínicas de los HLA -DR, MB en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico, encontrando que el antígeno HLA-DR2 y MB1 fue significativamente aumentado al compararlos con los controles en población Caucásica. En forma secundaria

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

consideraron que DR2 y DR3 podrían considerarse marcadores de susceptibilidad de MHC para LES. (21)

Se han realizado estudios en familias con casos múltiples de LES, uno de ellos realizado por Tuedsson elaborado en diez familias caucásicas con dos o más casos con LES, concluyendo que el haplotipo (HLA-B8,SC01, DR17) esta fuertemente relacionado con la enfermedad. Posteriormente en Bulgaria Sels realizó un estudio familiar con múltiples casos, de tipificación de HLA en diferentes enfermedades autoinmunes, encontraron que dos de tres hermanos que presentaban el haplotipo HLA-A2/3, B8735,DR2/3 presentaban LES, lo que podría sugerir un rasgo Mendeliano dominante. (22,23)

Posteriormente Reveille en 1997 analizó el Lupus Eritematoso Sistémico en tres grupos étnicos(Caucásicos, Americanos-Africanos e Hispanos), encontrando mayor incidencia del alelo HLA-DRB1*0301 (DR3) en Caucásicos; DRB1*1503 (DR2) en Americanos-Africanos y DRB1*08 (DR8) en Hispanos. Otro aspecto que llama la atención, es la forma de presentación de la enfermedad en los diferentes grupos de estudio por ejemplo: la enfermedad cardiaca es más frecuente en los Hispanos (40%) en comparación con la baja frecuencia en los Caucásicos con un (15%. La enfermedad neurológica tiene una baja frecuencia en los Caucásicos (14%) Vs. (26%) en los otros grupos étnicos. El 59% de los Americanos -Africanos tienen enfermedad renal. Concluyendo que la forma de presentación de LES se ve modificada por otras variables como son: socioeconómicas, inmunológicas, inmunogenéticas, fisiológicas, que pueden predecir la actividad y el curso de LES. (24,25)

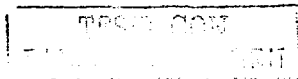
El primer estudio realizado por Granados y col., en población adulta Mexicana con Lupus Eritematoso Sistémico, se encontró incremento de la frecuencia de los siguientes alelos HLA-DR3 ($pC=0.03$, $RR2.56$) y HLA-DR7 ($pC=0.004$, $RR=3.08$) comparado con el grupo control, este último alelo se le ha asocia con Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos.

TRINIS COM
FALLA
SEN

Posteriormente al analizar la distribución de haplotipos Clase II en pacientes adultos con LES, determinaron que existe una fuerte asociación de los siguientes haplotipos y LES: HLA-DR3-DQA1*0501-DQB1*0201 ($p= 0.017$, $OR= 2.97$), seguido por HLA-DR1-DQA1*0101-DQB1*0501. Además de encontrar una gran variabilidad de desequilibrio para los haplotipos con DRB1*1501, demostrado por un aumento en la recombinación con haplotipos poco comunes en Indios Americanos pero con una alta frecuencia en Caucásicos, es factible que esta mezcla de genes entre Indios Americanos y Caucásicos incremente el riesgo en la población Mexicana para el desarrollo LES. (26,27,28,29)

Con respecto a la población pediátrica con LES, se ha visto que la enfermedad tiene un comportamiento clínico diferente al adulto; con afección a su inicio a órganos vitales en mayor porcentaje. Font en 1998 compara manifestaciones clínicas e inmunológicas de población pediátrica con LES Vs. Población adulta, observando que la nefropatía es más común en niños con respecto a los adultos (20% Vs. 9%, $p= 0.04$; $OR= 2.7$, IC 95%: 1.1-7), así como la fiebre (41% en niños Vs. 21% en adultos con LES, $p= 0.006$; $OR= 2.6$, IC 95%: 1.2- 5.7); con respecto a las titulaciones de anticuerpos sólo se encontró elevado anticardiolipinas del isotipo IgG (29% Vs 13%, $p= 0.017$; $OR 2.9$, IC 95%: 1.1- 6.8) el resto de anticuerpos fueron similares en ambos grupos. Carreño en 1999 realizó un estudio para ver las diferencias clínicas e inmunológicas entre el LES de inicio juvenil y de inicio adulto, encontrando las siguientes: el LES de inicio juvenil presenta una alta frecuencia de vasculitis cutánea (44.8% vs. 27.6%), convulsiones (18.3% vs. 7.6%), nefropatía (67.3% vs. 48.4%) y eritematoso discoide (26.5% vs. 13.8%), las manifestaciones articulares fueron menores en comparación con el adulto (85.7% vs. 96.1%). Los marcadores inmunológicos fueron similares en ambos grupos. (5, 30, 31,32)

Existe el reporte de un estudio realizado en población de niños Brasileños con LES, sobre la frecuencia del alelo HLA-DR, donde se encontró diferencia en el alelo más frecuente reportado en población pediátrica con LES, ya que ellos reportaron una mayor incidencia del alelo DR-2 en el 34% de la población pediátrica con LES estudiada a diferencia de la población adulta con LES que se le ha asociado con HLA-DR3. (33)



JUSTIFICACIÓN

Se desconoce la etiología del Lupus Eritematoso Sistémico, a pesar de lo cual se sabe, es posible que el factor genético tenga un importante papel en la susceptibilidad y expresión de la enfermedad. Los antígenos de histocompatibilidad HLA asociados con LES suelen ser diferentes en las diversas poblaciones del mundo, por ejemplo: DR3 en Caucásicos, DR2 en Orientales y Sudafricanos. (18, 19)

Estudios realizados por Granados y colaboradores, en población mexicana adulta con Lupus Eritematoso Sistémico mostraron mayor frecuencia de los antígenos HLA-DR3, HLA-DR7. (26, 27)

Sin embargo en la literatura nacional no se registran estudios realizados en niños con LES y su asociación con los antígenos de histocompatibilidad, motivo por lo que se justificó la realización de este proyecto de investigación. Se deseaba caracterizar genéticamente a una población de niños mexicanos con LEG y conocer los genes que distinguen a un niño con diagnóstico temprano de LEG.

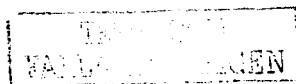
En 1998 el LEG ocupó el primer lugar, como motivo de consulta externa del servicio de Reumatología Pediátrica, del Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza" Centro Médico La Raza. Centro Hospitalario de tercer nivel que capta población del D. F, área Metropolitana y algunos estados del centro del país como: Toluca, Hidalgo, Querétaro; estados del centro de la Republica Mexicana y con alto porcentaje de población mestiza.

Poder conocer el perfil de los antígenos de histocompatibilidad en pacientes pediátricos permitirá caracterizar la información genética en la población pediátrica, ya que el niño también se encuentra expuesto a factores externos tales como: cambios hormonales, factores ambientales, infecciones virales, ingestión de medicamentos, que pueden contribuir al desarrollo de LEG.



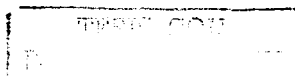
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la frecuencia génica de los antígenos de histocompatibilidad Clase II (HLA-DR y HLA-DQB1), en una población de niños mexicanos con Lupus Eritematoso Generalizado?



OBJETIVO

Determinar la frecuencia génica de los antígenos de histocompatibilidad Clase II (HLA-DR y HLA-DQB1), en una población de niños mexicanos con Lupus Eritematoso Generalizado.



MATERIAL Y METODOS

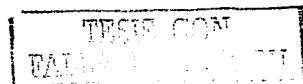
TIPO DE INVESTIGACIÓN: Clínico.

DISEÑO DE ESTUDIO: Transversal Descriptivo

POBLACION O UNIVERSO DE TRABAJO

Se estudió a un grupo de niños mexicanos con las siguientes características:

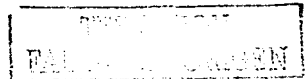
Con diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado, de acuerdo a los criterios del (ACR); del servicio de Reumatología Pediátrica que cumplieron los criterios de selección, derechohabientes del Hospital General Dr. Gaudencio González Garza Centro Médico "La Raza".



CRITERIOS DE SELECCIÓN

Inclusión:

- . Con edad de 5 a 16 años de vida
- . Niñas y niños
- . Con diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado de acuerdo a los criterios del Colegio Americano de Reumatología (ACR)
- . Que acudieran al servicio de Reumatología Pediátrica del Hospital General Centro Médico La Raza.
- . Consentimiento informado firmado por el padre o tutor (Anexo 1)



VARIABLES DE ESTUDIO

Lupus Eritematoso Generalizado.

Definición conceptual:

El Lupus Eritematoso Generalizado es una enfermedad inflamatoria crónica, de tipo auto inmune con afectación multisistémica, resultado de trastornos de los mecanismos normales de inmunorregulación causado por interacción de factores genéticos, hormonales ambientales. (1,2)

Definición operacional:

Para este proyecto se consideran los criterios del Colegio Americano de Reumatología (ACR) para el diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico. (4) Cuatro o más criterios hacen el diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado.

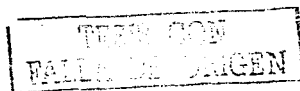
Indicadores: Presente o ausente.

Escala de medición: Nominal Dicotómica.

Antígenos de Histocompatibilidad (HLA)

Definición conceptual:

Los antígenos de Histocompatibilidad constituyen un conjunto de genes polimórficos que codifican glucoproteínas que se expresan en la superficie celular, se encuentran localizados en el brazo corto del cromosoma 6, su función principal es unir fragmentos de proteínas extrañas, formando complejos que pueden ser reconocidos por los linfocitos T. (11, 12)



Definición operacional:

La presencia de los antígenos de Histocompatibilidad clase II que se identificó en tejido sanguíneo mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa amplificada con iniciadores de secuencia específica (PCR-SSP) (34)

Indicadores: presencia o ausencia.

Escala de medición: Nominal Dicotómica.

OTRAS VARIABLES DE ESTUDIO.

Edad.

Definición conceptual: Tiempo que lleva viviendo un ser vivo en años. (35)

Definición operacional: tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo, medido en años cumplidos.

Indicadores: años cumplidos

Escala de medición: numérica continua.

Sexo.

Definición conceptual: conjunto de caracteres genéticos, morfológicos y funcionales que distinguen a los individuos machos de las hembras en el seno de cada especie. (35)

Definición operacional: características fenotípicas que distinguen al hombre de la mujer.

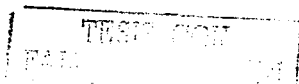
Indicadores: femenino y masculino

Escala de medición: nominal dicotómica.

Lugar de Nacimiento.

Definición conceptual: región geográfica donde el ser vivo nace, lo que permite que este grupo de personas compartan cierto grado de homogeneidad que la población en general, ya sea por similitud de costumbres actuales o por una herencia biológica común.

(35)



Definición operacional: sitio en el área de la nación en donde nace el ser humano, por tanto este grupo de personas presentan semejanza en características genéticas, ambientales y tradiciones.

Indicadores: Distrito Federal, Estado de México, Hidalgo

Escala de medición: nominal cualitativa.

Tiempo de evolución del Lupus Eritematoso Generalizado.

Definición conceptual: Evolución desde su inicio de las manifestaciones clínicas compatibles con el diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico, las cuales se corroboraron por medio de los criterios del Colegio Americano de Reumatología. (4)

Definición operacional: Número de años y meses transcurridos desde el inicio de las primeras manifestaciones clínicas del Lupus Eritematoso Generalizado.

Indicadores: años y meses

Escala de medición: numérica continua.

Forma de presentación clínica de Lupus Eritematoso Generalizado.

Definición conceptual: conjunto de manifestaciones clínicas y de laboratorio reversibles del proceso inflamatorio, secundario a LEG a diversos sistemas del cuerpo humano. (5)

Definición operacional: forma de presentación clínica de LES de acuerdo a los sistemas afectados.

Indicadores: Renal, Hematológico, Mucoarticular, Sistema Nervioso Central, Cardíaco, Pulmonar, Sistema digestivo.

Escala de medición: Nominal



DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

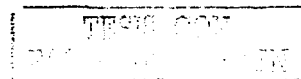
Lugar donde se realizó el estudio:

Servicio de Reumatología Pediátrica del Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza"
Centro Médico La Raza.

Laboratorio de Reumatología e Inmunología del Instituto Nacional de la Nutrición "Dr. Salvador Zubirán".

Laboratorio de Biología Molecular del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

- Se captaron todos los pacientes del servicio de Reumatología Pediátrica con diagnóstico clínico de Lupus Eritematoso Generalizado, de marzo del 2000 hasta el mes de Febrero del 2001, se les localizó vía telefónica y / o por medio de su cita ordinaria al servicio de Reumatología.
- Se les proporcionó información verbal en forma breve sobre el protocolo " Frecuencia de antígenos de Histocompatibilidad Clase II en una población de niños mexicanos con Lupus Eritematoso Generalizado".
- En caso de aceptar participar en el estudio firmaron una carta de consentimiento informado. (anexo 1)
- Se les tomó una muestra sanguínea de 3cc.
- Las muestras sanguíneas fueron llevadas al laboratorio de Reumatología e Inmunología del Instituto Nacional en Ciencias Médicas y Nutrición "Dr. Salvador Zubirán", en donde se les realizó extracción de DNA usando Kit Bdtract TM.



TÉCNICA EXTRACCIÓN DE DNA

La extracción del DNA se realizó utilizando el Kit Bdtract TM, dado que nos permite aislar de manera rápida y eficiente DNA genómico de leucocitos de sangre periférica.

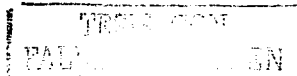
El Kit está diseñado con la característica de prescindir del uso de solventes orgánicos como el fenol y el cloroformo utilizados en otras metodologías. El DNA extraído está libre de RNA y este puede ser utilizado para ensayos de biología molecular como fragmentos de restricción polimórficos (RFLP) o reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Método para la extracción de DNA usando el Kit Bdtract TM:

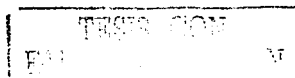
1. - Se tomó 2.5 ml de sangre periférica con un agente anticoagulante (EDTA) y transfirió a un tubo de polipropileno de 15 ml
2. - Se agregaron 2.5 ml de solución BD-1 mezclando varias veces hasta que estuvieran perfectamente combinados.
3. - Se centrifugó por 10 minutos a 2300 rpm.
4. - Se eliminó el sobrenadante cuidadosamente para no suspender el botón celular.
5. - Se agregaron 2.5 ml de solución de BD-2 para lavar el botón y centrifugó por 10 minutos a 2300 rpm.
6. - Se desechó el sobrenadante y posteriormente se resuspendió el botón con 0.6 ml de solución BD-3, se agitó con la pipeta varias veces. Posteriormente se incubó a 65° C por 15 minutos.

Nota: si se formaba un precipitado en la solución BD-3 mantenía a 37° C antes de usar.

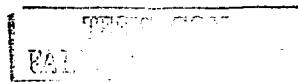
7. - Posteriormente se agregó 2.0 ml de solución BD-4 dentro del tubo y mezcló bien.
8. - Se transfirió a un tubo eppendorf de 2.0 ml y centrifugó durante 10 minutos al máximo de la velocidad de la centrifugadora. (si se observaba un precipitado en el sobrenadante, se centrifugaba de nuevo)



9. - Se vaciaba el sobrenadante a otro tubo de eppendorf limpio y agregó 0.6 ml de isopropanol a temperatura ambiente.
10. - Se mezcló la muestra por inmersión muchas veces hasta observar el DNA precipitado.
11. - Se centrifugó por 10 minutos a la máxima velocidad de la microcentrifugadora.
12. - Posteriormente se desecho el sobrenadante y lavo el DNA con 1 ml de etanol al 70% frío.
13. - Se centrifugó por 5 minutos a la máxima velocidad de la microcentrífuga y desechó el sobrenadante.
14. - Finalmente esperar a que el DNA (en el fondo del tubo) se seque y resuspender en agua estéril o buffer TE (100 ml), se calentó a 65° C de 15 a 30 minutos en caso de que el DNA no se disuelva.
15. -Se determinó la concentración del DNA por espectrofotometría de luz UV a 260 nm.
16. - El DNA estaba listo para usarse.



- Posteriormente las muestras fueron llevadas al laboratorio de biología molecular del Instituto de Cardiología Ignacio Chávez, para realizar la tipificación de los antígenos de Histocompatibilidad Clase II (HLA-DR y HLA-DQB), se procesaron en bloque de 10 muestras por medio de la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa Amplificada con iniciadores de secuencia específica (PCR-SSP), utilizando test DynaIRELI SSO: HLA-DR y HLA-DQB1 respectivamente para el alelo que se deseaba tipificar.
- Una vez procesadas las muestras la información se vació a las hojas de captación de datos y finalmente se analizaron los resultados.



ANALISIS ESTADISTICO.

Se utilizó paquete estadístico SPSS Versión 10.0 para el análisis de las características clínicas y demográficas de la población estudiada.

La significación estadística fue evaluada por medio de Chi cuadrada, con corrección de Yates y prueba exacta de FISE cuando fue necesario, con el paquete estadístico EPIINFO Versión 6. (36)

ASPECTOS ETICOS

Este estudio se considera una investigación con riesgo mínimo que se ajusta a las normas éticas Institucionales y a la Ley General de Salud en materia de investigación en Seres Humanos, así como la declaración de "Helsinki", (37)

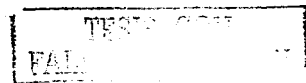
Se proporcionó una carta consentimiento informado, la cual fue firmada por los padres del mismo (anexo 1), en la cual se da información de los objetivos, métodos, del estudio.

El proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité Local de Investigación del Hospital General Dr. Gaudencio González Garza Centro Médico "La Raza", con el No. 99-691-0053.

RECURSOS

Contamos con el servicio de Reumatología Pediátrica de donde se captaron los pacientes del Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza" Centro Médico La Raza, además de los recursos humanos y físicos para su elaboración.

El trabajo de Investigación recibió apoyo económico por Fondo para el Fomento de la Investigación (FOFOI) en el IMSS.



RESULTADOS

Se incluyeron 54 pacientes pediátricos con Diagnóstico de LEG, de acuerdo a los criterios de (ACR), del Servicio de Reumatología Pediátrica del Hospital Dr. Gaudencio González Garza Centro Médico La Raza. Presentaron la siguiente distribución por sexo (niñas 47 y niños 7) con una proporción niña a niño de 6.7 a 1 (Gráfica No.1. Con una edad promedio al momento de ser captado de 14.22 años (rango de 7 a 16 años) y una desviación estándar de 2.25. El promedio de edad al momento del diagnóstico de LEG fue de 11.19 años (con un rango de 6 a 16 años) y con una desviación estándar de 2.23 (Gráfica No. 2. La población pediátrica incluida presentaba como lugar de residencia estados de la región centro de nuestra República Mexicana como son: Distrito Federal, Estado de México y Pachuca.

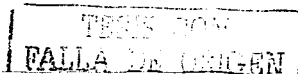
Las primeras manifestaciones clínicas antes de realizar el diagnóstico en orden de frecuencia fueron: artritis (61%), eritema malar (55.5%), caída de cabello (44%), fiebre (43%), proteinuria (39%) edema de cara y extremidades (24%. (tabla No. 1. La forma de presentación clínica al momento de realizar el diagnóstico de LEG en la población pediátrica estudiada fue: Mucoarticular en 38 pacientes (70%), Renal en 21 pacientes (39%), Hematológico en 14 pacientes (26%), Sistema Nervioso Central en 7 pacientes (15%). Después de un año de evolución con Lupus Eritematoso Generalizado en 26 pacientes (48%) presentan aún datos de Nefropatía lúpica y en 10 pacientes existían datos de afección mucoarticular (tabla No.1. En 42 pacientes (78%) presentaron más de un órgano afectado al momento de realizar el diagnóstico de LEG. Otro aspecto de interés es que 13 pacientes (24%) tienen el antecedente de contar con un familiar de primer orden con diagnóstico de enfermedad reumatológica, principalmente LEG seguido por Artritis reumatoide.



De los pacientes con afección renal se obtuvo el resultado de 14 biopsias renales, de las cuales trece (92.85%) mostraron datos con Nefritis Lúpica tipo IV y una tipo V (7.21%) de acuerdo a la clasificación de la OMS (Organización Mundial de la Salud) para Nefropatía Lúpica. En nueve de estas fue posible asignar criterios de actividad y cronicidad; ocho de ellas presentaron un índice de actividad intenso (mayor de 6 puntos) y el restante un índice de actividad leve (Figuras No. 1,2,3). Siete biopsias mostraron un índice de cronicidad menor de 3 puntos y sólo dos un índice mayor de 3 puntos (Figuras No. 4,5) .

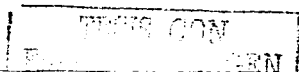
La frecuencia génica (fg) de los alelos HLA-DR en los 54 niños con LEG es mostrada en la tabla 2, en donde también se muestra la frecuencia génica en otras dos poblaciones con LEG, adultos y ancianos; observándose que la (fg) de HLA-DR3 en la población pediátrica se encuentra baja con respecto a los adultos (fg. de. 0.064 vs. 0.117), a diferencia de HLA-DR8 se encuentra alta en la población pediátrica con respecto al adulto (fg. de 0.175 vs. 0.092).

Al notar una frecuencia génica un poco diferente entre la población pediátrica con LEG y los adultos, nos permitimos contrastar los resultados con Individuos Sanos Mestizos mexicanos que habían sido el grupo control en los estudios de población adulta con LEG y realizar análisis estadístico para tratar de encontrar si algún alelo y posteriormente como haplotipo mostraba diferencia estadísticamente significativa, encontrando los siguientes resultados: el alelo HLA-DR10 mostró un incremento estadísticamente significativo al compararlo con el grupo control ($p = 0.05$, OR 2.32, IC del 95% de 1.45 a 3.69), con respecto al alelo HLA-DQB*0602 fue el único que mostró diferencia estadística ($p = 0.05$, OR 2.08, IC 95% 0.92 a 4.66) (tabla 3. Cuando se analizó como haplotipo HLA-DR/DBQ se encontraron que tres mostraban diferencia estadísticamente significativa, que corresponden a: HLA-DR2/DQB*0602 ($p = 0.0035$, OR 3.65, IC 95% 1.45 a 9.34), HLA-DR11/DQB*0301



($p = 0.000007$, OR 3.04, IC 95% 2.58 a 3.58) y HLADR14/DQB*0301 ($p = 0.00073$, OR 2.50, IC 95% 1.85 a 3.38). (tabla 4)

Se encontró una alta prevalencia de homocigotos en 25 pacientes (46.29%), de los cuales 11 (20.3%) casos corresponde a HLA-DR y 14 (25.92%) pacientes a HLA-DQB. Todos tuvieron un comportamiento clínico más agresivo independientemente del órgano afectado. (tabla 5)

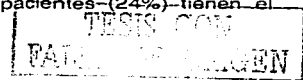


DISCUSIÓN

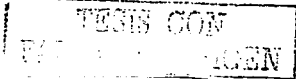
Este trabajo describe por primera vez las características clínicas y demográficas comparadas con los marcadores genéticos de MHC en una población pediátrica mexicana con Lupus Eritematoso Generalizado.

La población de 54 niños con LEG analizada, presentó las siguientes características: predominó el sexo femenino, con una relación niña: niño de 6.1: 1, similar a lo que se reporta en series mundiales (8). Con una edad promedio al momento de realizar el diagnóstico de 11 años y con una desviación estándar de 2.23, con un rango de 6 a 16 años de edad. La población pediátrica incluida presentaba como lugar de residencia estados de la región centro de nuestra República Mexicana como son: Distrito Federal, Estado de México y Pachuca, estados de la región centro de nuestra República y con un alto grado de migración de otros estados y en forma secundaria un alto grado de mestizaje de la población.

Las primeras manifestaciones clínicas antes de realizar el diagnóstico en orden de frecuencia fueron: artritis (61%), eritema malar (55.5%), caída de cabello (44%), fiebre (43%), proteinuria (39%) edema de cara y extremidades (24%). (tabla No. 1); los cuales son similares a los estudios realizados en población pediátrica con LEG realizados por Iqbal, Carreño y Font. en donde predominan las manifestaciones músculo esquelético (30,31,32) Con respecto a la forma de presentación clínica al momento de realizar el diagnóstico de LEG en la población pediátrica estudiada: Mucoarticular en 38 pacientes (70%), Renal en 21 pacientes (39%), Hematológico en 14 pacientes (26%), Sistema Nervioso Central en 7 pacientes (15%); nuestros resultados son semejantes a los otros estudios realizados en población pediátrica, en donde al inicio se tiene mayor afección muco articular seguida por la renal. (31,32. (tabla 1. Otro aspecto de interés fue que 13 pacientes (24%) tienen el



antecedente de contar con un familiar de primer con diagnóstico de enfermedad reumatológica principalmente Lupus Eritermatoso Generalizado seguido por Artritis Reumatoide, cifra más elevada con respecto a lo que se reporta en la literatura (10% al 12%), lo que podría indicar que el factor herencia tiene un papel más importante en nuestra población pediátrica para el desarrollo de LEG. (9. No se logró asociar alelos con la forma de presentación clínica del LEG, dado que presentaron una distribución estocástica. Con respecto al estudio inmunogenético, este trabajo muestra el papel que tienen las moléculas Clase II del MHC en la fisiopatogenia del LEG. La distribución génica de los alelos HLA-DR fue discretamente diferente a lo reportado previamente en población adulta con LEG, se esperaba encontrar elevado DR3 en la población pediátrica, pero su frecuencia génica fue baja (0.064 en los niños Vs. 0.117 en los adultos), a diferencia del alelo DR8 que se esperaba encontrar bajo o muy similar que en la población adulta y se encontró alto (frecuencia génica de 0.175 en niños Vs. 0.092 en adultos). Con respecto a los alelos HLA-DQB, el alelo que se encontró con una frecuencia génica alta al comparar la población pediátrica Vs. adulta fue * 0602 (frecuencia génica de 0.148 Vs. 0.077) (27. Al tener una distribución génica de los alelos diferente en la población pediátrica y adulta se decidió contrastar nuestros resultados con el grupo de individuos sanos mestizos mexicanos que habían servido de control para el estudio realizado en adultos y tratar de analizarlos estadísticamente para tratar de encontrar si existían diferencias significativas. La combinación en forma de haplotipo HLA-DR/DQB*0602 mostró un incremento estadísticamente significativo en el grupo de niños con LEG ($p = 0.0035$, OR 3.65, IC 95% 1.45 – 9.34), seguido por HLA-DR11/DQB*0301 ($p = 0.0000$, OR 3.04, IC 95% 2.58 – 3.58) y HLA-DR14/DQB*0301 ($p = 0.007$, OR 2.50, IC 95% 1.8 – 3.38)(28,29. Estos resultados muestran que los pacientes pediátricos mexicanos con LEG, tienen una forma particular de



mestizaje con poblaciones orientales que le confiere susceptibilidad para el desarrollo de LEG, otro punto de interés es que el alelo HLA-DR2 también se encuentra con una mayor frecuencia en los niños Brasileños con LEG (33).

Lo anterior sugiere que el mecanismo fisiopatogénico del LEG pediátrico tiene una carga genética discreta y que probablemente constituya hasta un 30% de la fisiopatogenia, donde interactúan con factores ambientales traducidos en infecciones virales (citomegalovirus, Epstein- Barr), cambios hormonales, exposición a sustancias químicas, y esta combinación incrementa riesgo para el desarrollo de LEG en la población pediátrica.

Por otro lado se sabe por estudios en población adulta que el mecanismo por el cual se ejerce la susceptibilidad para LEG, involucra la producción de autoanticuerpos en particular de los ANA, anti Sm, anti Ro, anti La, en donde el alelo HLA-DR3 se asocia fuertemente con dichos anticuerpos.

La carga genética en el LEG pediátrico se sustenta en el número de homocigotos encontrados en la población pediátrica (particularmente HLA-DR2), lo anterior confirma el papel de las moléculas Clase II, dan susceptibilidad genética al LEG pediátrico.

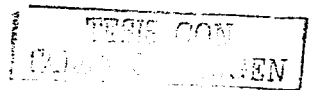
Es probable que las diferencias de las frecuencias génicas de los alelos de la Clase II (HLA-DR y HLA-DQB) en la población pediátrica y la población adulta con LEG, se vean favorecidas por un mayor índice de mestizaje en las nuevas generaciones y en forma secundaria al contar con genes diferentes la población pediátrica nos explique parcialmente porque el comportamiento clínico suele ser distinto en la población pediátrica. Consideramos que el tipo de diseño de nuestro estudio nos limita para poder identificar mejor ¿cuáles? alelos y haplotipos pueden considerarse como factor asociado para el desarrollo de LEG en la población pediátrica, por lo que el siguiente paso sería realizar un estudio con diseño de casos y controles, tratando de controlar todos los posibles sesgos.

CONCLUSIÓN

Los pacientes pediátricos mexicanos con Lupus Eritmatoso Generalizado tienen una carga genética discreta en la fisiopatogenia de esta enfermedad, la cuál puede ser medida a través de la tipificación de los genes del sistema HLA.

Este trabajo muestra que el haplotipo HLADR2/DQB1*0602 podría ser considerado un marcador de susceptibilidad genética al Lupus Eritmatoso Generalizado pediátrico en México.

Es posible que el incremento en el grado de mestizaje de las nuevas generaciones, ha favorecido en los niños Mexicanos un aumento en el riesgo para desarrollar Lupus Eritmatoso Generalizado.



ANEXOS

ANEXO 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DE PACIENTES.

LUGAR Y FECHA: _____

Por medio del presente autorizo a mi hijo (a):

Para participar en el proyecto de investigación titulado "Frecuencia de los Antígenos de Histocompatibilidad Clase II en una población de niños Mexicanos con Lupus Eritematoso Generalizado", registrado ante el Comité Local de Investigación del Hospital General Centro Médico "La Raza", con el No. 99-691-0053.

El objetivo de éste estudio es caracterizar la información genética y conocer el papel del factor herencia en el desarrollo de Lupus en una población de niños mexicanos. Lo cual permitirá conocer cuales antígenos están presentes con mayor frecuencia con Lupus. Además de que no existen estudios sobre antígenos y Lupus Eritematoso Generalizado en niños a nivel Nacional.

Se nos ha explicado que nuestra participación consistirá, en aceptar que se nos tome una muestra sanguínea de 3cc con equipo estéril y responder las preguntas del cuestionario (anexo 2)

Declaramos que se nos ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias, como la formación de moretón en el sitio de punción; así como los beneficios derivados de nuestra participación en el estudio.

El investigador principal se ha comprometido a darme información oportuna, así como a responder a cualquier pregunta y aclarar cualquier duda, los riesgos y los beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con su tratamiento.

Entendemos que conservamos el derecho de no participar en el estudio, sin que ello afecte la atención médica que recibo del Instituto.

El investigador principal nos ha dado seguridades de que no, se nos identificará en las presentaciones y publicaciones que se deriven de este estudio y que los datos relacionados con nuestra privacidad serán manejados en forma confidencial, también se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio.

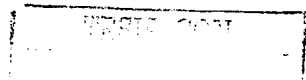
Nombre y firma de la Madre.

Nombre y firma del Padre

Nombre, matrícula y firma del investigador principal.

Testigo

Testigo



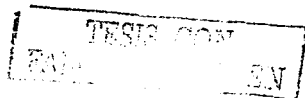
ANEXO 2
HOJA DE CAPTACION DE DATOS GENERALES

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL "DR. GAUDENCIO GONZALEZ G" CENTRO MEDICO LA RAZA
PROTOCOLO " FRECUENCIA DE ANTIGENOS DE HISCOMPATIBILIDAD CLASE II EN
UNA POBLACION DE NIÑOS MEXICANOS CON LUPUS ERITEMATOSO
GENERALIZADO"

Nombre: _____ Folio _____
No. Afiliación IMSS _____
Edad: _____
Sexo: _____
Lugar de nacimiento: _____
Hablan algún dialecto: 1) SI /_____/ 2) NO /_____/
Fecha del Diagnóstico de Lupus Eritematoso Generalizado _____
Criterios que presenta del Colegio Americano de Reumatología
(anexo2) _____
Número de órganos afectados por LEG _____
Antígenos HLA presentes: _____

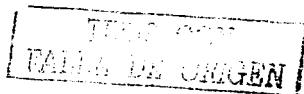
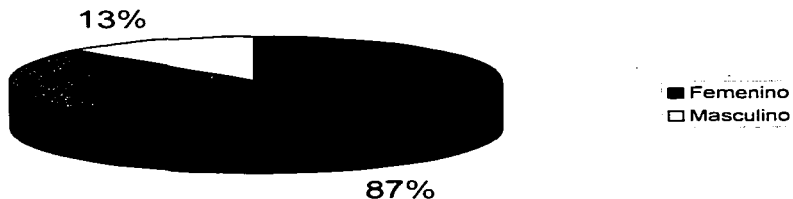
Madre:
Nombre: _____
Edad: _____
Lugar de nacimiento: _____
Lugar de nacimiento de los padres: _____
Hablan algún dialecto los abuelos paternos 1) SI /_____/ 2) NO /_____/
Presenta alguna enfermedad. 1) SI /_____/ 2) NO /_____/
¿ Qué enfermedad? _____

Padre:
Nombre: _____
Edad: _____
Lugar de nacimiento: _____
Lugar de nacimiento de los padres: _____
Hablan algún dialecto los abuelos paternos 1) SI /_____/ 2) NO /_____/
Presenta alguna enfermedad. 1) SI /_____/ 2) NO /_____/
¿ Qué enfermedad? _____

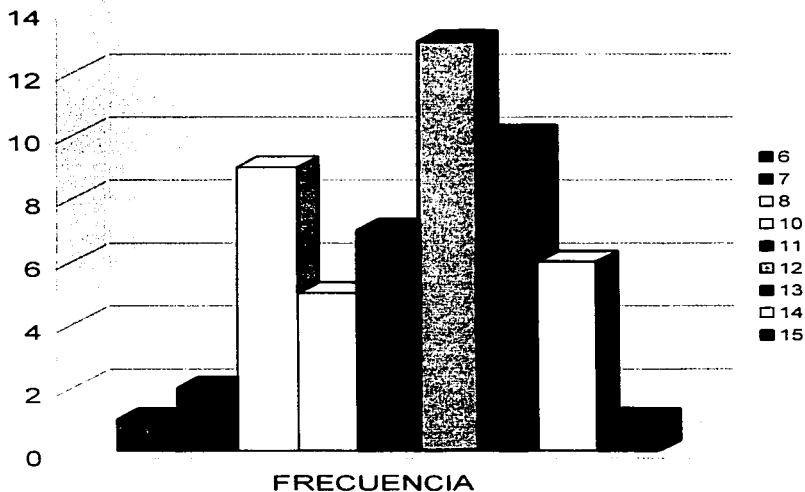


ANEXO 3 GRAFICAS, FIGURAS Y TABLAS

GRAFICA NO. 1 DISTRIBUCION POR SEXO DE LA POBLACION PEDIATRICA CON LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO.



**GRAFICA NO. 2 DISTRIBUCION POR EDAD DE LA POBLACION
PEDIATRICA CON LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO AL MOMENTO
DE REALIZAR EL DIAGNOSTICO.**



**IMAGENES DE CRITERIOS PARA INDICE DE ACTIVIDAD DE
NEFROPATÍA LÚPICA DE ACUERDO A LA CLASIFICACIÓN DE LA ORGANIZACIÓN
MUNDIAL DE LA SALUD**

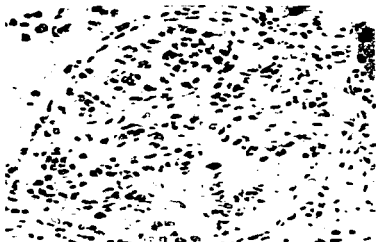


Figura No.1 Cariorrexis

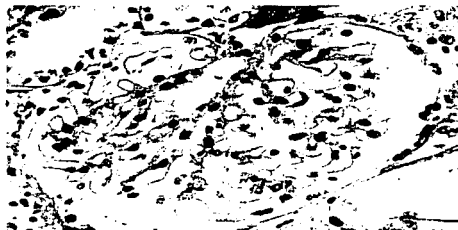


Figura No. 2 Depósitos hialinos

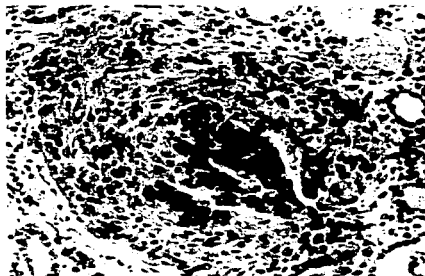
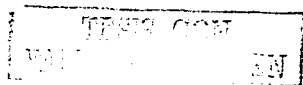


Figura No. 3 Formación Crescentérica



**IMAGENES DE CRITERIOS PARA INDICE DE CRONICIDAD DE NEFROPATIA LUPICA
DE ACUERDO A LA CLASIFICACION DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD**



Figura No. 4 Esclerosis glomerular, fibrosis intersticial

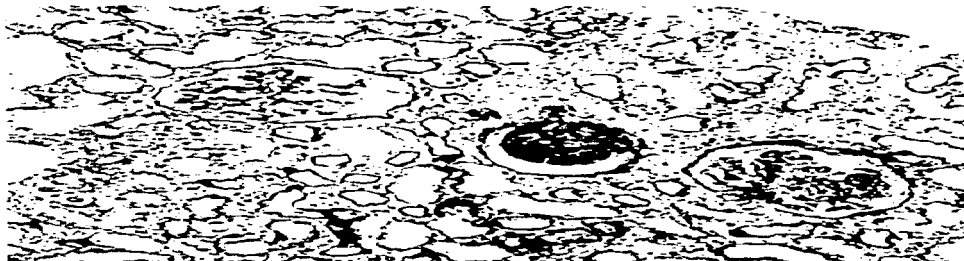
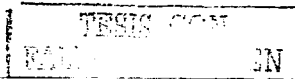


Figura No. 5 Atrofia tubular



TABLA No.1 PRIMERAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS ANTES DE REALIZAR EL DIAGNOSTICO, AL MOMENTO DE REALIZARLO Y SEGUIMIENTO A UN AÑO DESPUES DEL DIAGNOSTICO DE LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO, EN NIÑOS MEXICANOS.

PRIMERAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS ANTES DEL DIAGNÓSTICO DE LEG		AL MOMENTO DE REALIZAR EL DIAGNOSTICO DE LEG		SEGUIMIENTO A UN AÑO DESPUÉS DEL DIAGNOSTICO DE LEG	
ARTRITIS	61%	MUCOARTICULAR	70%	RENAL	48%
ERITEMA MALAR	56%	RENAL	39%	MUCOARTICULAR	18%
CAIDA DE CABELLO	44%	HEMATOLÓGICO	26%	HEMATOLÓGICO	4%
FIEBRE	43%	SISTEMA	15%	SISTEMA	
PROTEINURIA	39%	NERVIOSO CENTRAL		NERVIOSO CENTRAL	4%
EDEMA EN CARA	24%	CORAZÓN	4%	CORAZÓN	2%
Y EXTREMIDADES		DIGESTIVO	4%	FENÓMENO DE	2%
LEUCOPENIA Y	22%	PULMÓN	2%	RAYNAUD	
LINFOPENIA					
TROMBOCITOPENIA	18%				
CRISIS	15%				
CONVULSIVAS					
ULCERAS ORALES	11%				



**TABLA No. 2 DISTRIBUCION GENICA DEL ALELO HLA-DR EN
DIFERENTES GRUPOS DE EDAD CON LUPUS ERITEMATOSO
GENERALIZADO**

ALELO	NIÑOS		ANCIANOS		ADULTOS	
	n = 54	N = 108	N = 25	N = 50	n = 81	N = 162
	fg		fg		fg	
HLA-DR						
DR4	28	0.259	12	0.24	40	0.246
DR8	19	0.175	9	0.18	15	0.092
DR2	16	0.148	4	0.08	22	0.135
DR14	10	0.092	3	0.06	16	0.098
DR11	8	0.074	2	0.04	9	0.055
DR7	7	0.064	3	0.06	11	0.067
DR3	7	0.064	9	0.18	19	0.117
DR1	4	0.037	4	0.08	15	0.092
DR13	4	0.037	3	0.06	11	0.067
DR12	0		1	0.02	3	0.18
DR9	1	0.009	0		1	0.066
DR10	4	0.037			0	

fg = frecuencia génica

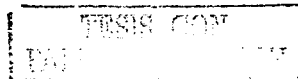


TABLA No. 3 FRECUENCIA GÉNICA DE LOS ALELOS HLA-DR Y HLA-DQB
DE NIÑOS MEXICANOS CON LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO
CONTRASTADOS CON UN GRUPO DE INDIVIDUOS SANOS MESTIZOS MEXICANOS.

ALELO	NIÑOS CON LEG			INDIVIDUOS SANOS MESTIZOS MEXICANOS			p	OR	IC 95%
	n=54	fg	n=99	fg					
DR4	28	0.259	47	0.237	NS	1.12	0.63	2.00	
DR8	19	0.175	33	0.165	NS	0.07	0.55	2.07	
DR2	16	0.148	18	0.09	NS	1.74	0.36	2.01	
DR3	7	0.064	11	0.055	-	-	-	-	
DR10	4	0.037	1	0.005	0.054	2.32	0.005-3.64		

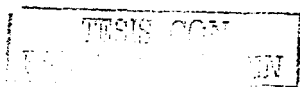
ALELO	NIÑOS CON LEG			INDIVIDUOS SANOS MESTIZOS MEXICANOS			p	OR	IC 95%
	n=54	fg	n= 97	fg					
DOB1									
0302	29	0.268	38	0.195	NS	1.51	0.83	2.72	
0402	19	0.175	27	0.139	NS	1.32	0.62	2.62	
0301	18	0.166	27	0.139	NS	1.24	0.61	2.48	
0602	16	0.148	15	0.077	0.051	2.08	0.92	4.66	
0201	14	0.129	30	0.154	0.554	0.810	0.39	1.69	

p = valor de p

NS = No significativo

fg = frecuencia génica

IC = Intervalo de Confianza



**TABLA No. 4 FRECUENCIA GÉNICA DEL HAPLOTIPO HLA-DR/DQB
DE NIÑOS MEXICANOS CON LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO
CONTRASTADOS CON UN GRUPO DE INDIVIDUOS SANOS MESTIZOS MEXICANOS.**

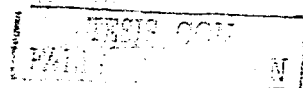
DR	NIÑOS CON LEG				INDIVIDUOS SANOS MESTIZOS MEXICANOS			
	DOB	N=54	fg	n= 99	fg	p	OR	IC 95%
4	0302	28	0.259	34	0.171	NS	1.69	0.92 - 3.09
3	0201	7	0.064	8	0.04	NS	1.65	0.82 - 5.17
7	0201	7	0.064	21	0.106	NS	0.58	0.22 - 1.51
8	0402	19	0.175	30	0.151	NS	1.20	0.61 - 2.34
2	0602	16	0.148	9	0.045	0.003000	3.65	1.45 - 9.31
11	0301	11	0.101	0	0	0.0000075	3.04	2.58 - 3.58
14	0301	10	0.092	2	0.01	0.00073	2.50	1.85 - 3.58

p = valor de p

NS = No significativo

fg = frecuencia génica

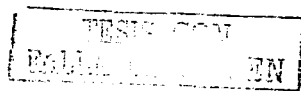
IC = Intervalo de Confianza



**TABLA No. 5 FRECUENCIA GENICA DE HOMOCIGOTOS DE LOS ALELOS
HLA-DR Y HLA-DQB EN NIÑOS MEXICANOS CON LUPUS ERITEMATOSO
GENERALIZADO**

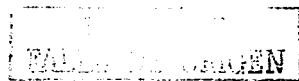
DR	NIÑOS CON LEG		DQB	NIÑOS CON LEG	
	n=11	N= 108 fg		n=14	N= 108 fg
DR4	5	0.046	0201	1	0.009
DR8	1	0.009	0301	2	0.018
DR2	3	0.027	0302	5	0.046
DR1	1	0.009	0402	1	0.009
DR10	1	0.009	0501	2	0.018
			0602	3	0.027

fg = frecuencia génica

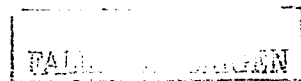


BIBLIOGRAFIA

1. Wood LV. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. En: Kelley W, Harris E. Textbook of rheumatology. 4ª Edición. USA. Saunders, 1993, Vol. II: 999 – 1055.
2. Crow Mary K, Christian Charles L. Etiologic hypothesis for systemic lupus erythematosus. En: Lahita Roberto G. Systemic Lupus Erytematosus. 2ª Edición. USA. Churchill Livingstone, 1992: 51 – 64.
3. Tsokos George. Overview of cellular immune function in systemic lupus erythematosus. En: Lahita Roberto G. Systemic Lupus Erytematosus. 2ª Edición. USA. Churchill Livingstone, 1992: 15 – 50.
4. Smith E, Shmerling R. The American College of Rheumatology criteria for the classification of systemic lupus erythematosus: Strengths, weaknesses, and opportunities for improvement. Lupus 1999; 8: 586 - 595.
5. Cassidy James T, Petty Ross E. Systemic Lupus Erythematosus. En : Textbook of Pediatric Rheumatology. 4º Edic. United States of America: W. B. Saunders Company, 2001: 396-449.
6. Ramos NF. Lupus Eritematoso Generalizado. En: Ramos N F. Enfermedades Reumáticas. Criterios y Diagnóstico. 1ª Edición. México. McGraw-Hill Interamericana, 1999: 80-128.
7. Schur Peter H. Clinical Feature of SLE. En: Kelley W, Harris E. Textbook of rheumatology. 4ª Edición. USA. Sunders, 1993, Vol. II: 1017-1039.
8. Szer Ilona S., Jacobs Jerry C. Systemic lupus erythematosus in childhood. En: Lahita Roberto G. Systemic Lupus Erytematosus. 2ª Edición. USA. Churchill Livingstone, 1992: 397 – 418.



9. Arnet FC, Reveille JD. Genetics of Systemic Lupus Erythematosus. *Rheum Dis Clin Nort Am* 1992; 18: 865 - 891.
10. Hochberg Marc C. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. En: Lahita Roberto G. *Systemic Lupus Erythematosus*. 2ª Edición. USA. Churchill Livingstone, 1992: 103 - 116.
11. Abbas A, Lichtman A, Pober J. El complejo principal de histocompatibilidad. En: Abbas A, Lichtman A, Pober J. *Inmunología Celular y Molecular*. 2ª edición. España. Interamericana, 1999: 104 - 123.
12. Roitt I, Brostoff J, Male D. T- cell receptors and MCH molecules. En: *Immunology*. 5ª Edición. London. Mosby, 1998: 83 - 119.
13. Rhodes D. A, Trowsdale J. Genetics and molecular genetics of the MCH. *Rev Immunogenetics* 1999; 1: 21 - 31.
14. Natarajan K. Li H., Mariuzza R. A., Margulies D. H. MCH Class I molecules, structure and function *Rev Immunogenetics* 1999; 1: 32- 46.
15. Nelson C. A, Fremont D. H. Structural principles of MCH class II antigen presentation *Rev Immunogenetics* 1999; 1: 47 - 59.
16. Atkinson John P. Genetic susceptibility and class III complement genes. En: Lahita Roberto G. *Systemic Lupus Erythematosus*. 2ª Edición. USA. Churchill Livingstone, 1992: 87 - 102.
17. Harley J, Moser K, Gaffney P, Behrens T. The genetics of human systemic lupus erythematosus. *Current O. Immunol* 1998; 10: 690 - 696.
18. McDevitt H. The role of MHC Class II molecules in susceptibility and resistance to autoimmunity. *Current O. Immunol* 1998; 10: 677 - 681.



19. Winchester Robert. Genetic Susceptibility to Systemic Lupus Erythematosus. En: Lahita Roberto G. Systemic Lupus Erytematosus. 2ª Edición. USA. Churchill Livingstone, 1992: 65 – 85.
20. Schur P. Genetics of systemic erythematosus. Lupus 1995; 4: 425 – 437
21. Ahearn J, Provost T, Dorsch C, Stevens M, Bias W. et. al. Interrelationships of HLA-DR, MB, and MT phenotypes, autoantibody expression, and clinical features in Systemic Lupus Erythematosus. Arthritis Rheum 1982; 9: 1031-40.
22. Truedsson L, Sturfelt G, Johansen P, Nived O, Thuresson B. Sharing of MHC Haplotypes among patients with Systemic Lupus Erythematosus from Unrelated Caucasian Multicase families: disease association with the extended haplotype (HLA-B8, SC01, DR17). The J Rheumatol 1995; 22 : 1852 - 1861.
23. Sels F, Westhovens R, Edmonds M-P, Vandermeulen E, Dequeker J. HLA typing in a large family with multiple cases of different autoimmune diseases. J Rheumatol 1997; 24: 856 - 859.
24. Reveille J, Moulds J, Ahn C, Friedman A, Baethge B, Roseman J, et. al. Systemic lupus erytematosus in three ethnic groups Arthritis Rheum 1998; 41 : 1161 - 1172.
25. Alarcón G, Roseman J, Bartolucci A, Friedman A, Moulds J, et. al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. Features Predictive of disease activity early in its course. Arthritis Rheum 1998; 4: 1173 - 1180.
26. Granados J, Vargas AG, Andrade F, Melin H, Alcocer J, Alarcón D. The role of HLA-DR alleles and complotypes through the ethnic barrier in systemic lupus erythematosus in Mexicans. Lupus 1996; 5: 184 - 189.



27. Granados J, Vargas AG, Drenkard C, Andrade F, Melín H, Alcocer J, Alarcón D. Relationship of anticardiolipin antibodies and antiphospholipid syndrome to HLA-DR7 in Mexican patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Lupus* 1997; 6: 57 - 62.
28. Bekker C, Yamamoto J.K., Vargas A, Ize D, Alcocer J, Granados J. Haplotype distribution of class II MHC Genes in Mexican Patients with systemic lupus Erythematosus. *Scand J Rheumatol* 1998; 27: 373 - 376.
29. Vargas G, Salgado N, Granados J, Gómez E, Martínez J, Alcocer J, Arnaiz A, Alarcón D. Class II and Haplotype frequency in Mexican Systemic Lupus Erythematosus Patients: The relevance of considering homologous chromosomes in determining susceptibility. *Human Immunology* 2001;62:814-820
30. Iqbal Shabio, Mendel R. Good Robert A. Cawkwell Gail D. Diversity in presenting manifestations of systemic lupus erythematosus in children. *J Pediatric* 1999; 135: 5000 - 5005.
31. Carreño L., López-Longo F J, Monteagudo I, Rodríguez- Mahou M, Bascones M. et. al. Immunological and clinical differences between juvenile and adult onset systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1999; 8: 287 - 292.
32. Font J, Cervera FJ, Espinosa G, Pallares, Ramos-Casals M, Jiménez S, García-Carrasco M. Systemic lupus erythematosus (SLE) in childhood: análisis of clinical and immunological findings in 34 patients and comparison with SLE characteristics in adults. *Ann Rheum Dis* 1998;57: 456-459.
33. Liphawus B.L, Kiss M, Goldberg A. C. Frequency of HLA-DR in Brazilian children with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2000; 27: 102.
34. Hui KM, Bidwell J. Path M.R. Handbook of HLA typing techniques. United States of América. CRC press. 1993: 150 - 173.



35. Pontón G. Gran Diccionario Enciclopédico Ilustrado. Barcelona. Grijalbo. 1998; 629, 723, 1535.
36. Dawson SB, Trapp RG. Bioestadística Médica. 3ª Edición. México. Manual Moderno. 2002: 7-19.
37. Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniforme para preparar manuscritos enviados a revistas biomédicas. Bol. Med. Hosp.. Infant. Mex. 1998;55:164-173.

