

(MarcadorDePosición1)No hay ninguna fuente en el documento actual.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA



DEPARTAMENTO DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION

HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO
SECRETARIA DE SALUD

**COMPARACION DEL HLA DE MESTIZOS MEXICANOS CON Y SIN
DIAGNOSTICO DE DERMATOMIOSITIS IDIOPATICA PRIMARIA**

Presenta:

Dra. Jesús Arelia Solórzano Ruiz.

**PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALIDAD EN
REUMATOLOGÍA**

Dr. Gustavo Esteban Lugo Zamudio

ASESOR

REGISTRO DE PROTOCOLO HJM 1758/09.09.08-R

México, DF Agosto de 2010



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.

Dr. José Guillermo Hernández Valencia

JEFE DE ENSEÑANZA

Dr. Alejandro Treviño Becerra

JEFE DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Dr. Gustavo Esteban Lugo Zamudio

**PROFESOR TITULAR
ASESOR DE TESIS**

AGRADECIMIENTOS

A mi querido esposo, Ricardo, quien ha sido sostén y apoyo en mis esfuerzos de superación profesional.

A mi hijo, Jaime Ricardo, quien me prestó el tiempo que le pertenecía y quien con su sonrisa me ha dado la fuerza para seguir adelante.

A mi Madre y Hermano por creer y confiar siempre en mí, apoyándome en todas las decisiones que he tomado en la vida.

A mis maestros, por sus consejos y por compartir desinteresadamente sus amplios conocimientos y experiencia.

A mis segundos padres, Jaime López y María Eugenia Martínez, por todo su apoyo en los momentos difíciles. Sin ustedes no hubiese podido hacer realidad este sueño.

INTRODUCCIÓN

Las miopatías inflamatorias son un grupo heterogéneo de patologías agudas, subagudas o crónicas del músculo esquelético, caracterizadas por debilidad muscular proximal, fatiga e infiltrado mononuclear en el músculo estriado.

Estas afecciones están dentro del grupo de enfermedades musculares idiopáticas englobadas en la clasificación de Bohan y cols. Tabla 1. ⁽¹⁾

Tabla 1.
Clasificación de
miopatías
Inflamatorias
(Bohan y Peter)

Grupo I	Polimiositis primaria idiopática
Grupo II	Dermatomiositis primaria idiopática
Grupo III	Miopatía asociada a neoplasia
Grupo IV	Miopatía de la infancia
Grupo V	Miopatía asociada a enfermedad del tejido conectivo

En este estudio nos enfocaremos a la Grupo II de esta clasificación.

Esta patología suele tener un inicio subagudo con debilidad muscular proximal progresiva, simétrica y dolorosa.

El compromiso de la cintura pélvica suele ser más temprano y doloroso que el de la cintura escapular, el diagnóstico se hace por la presencia de la debilidad muscular descrita asociada al rash heliotropo característico, las pápulas de Gottron sobre las

eminencias óseas, la elevación de las enzimas musculares, el miopático de la electromiografía y los hallazgos histopatológicos en biopsia muscular son diagnósticos, sin embargo en presencia de características clínicas de dermatomiositis, pruebas de laboratorio características (anticuerpos antinucleares con especificidades anti Mi y Jo, y elevación de CK, CPK y transaminasas) y la electromiografía con patrón miopático es posible prescindir de la biopsia muscular para el diagnóstico, es decir se nombra Dermatomiositis cuando cumple el criterio número 5, Dermatomiositis Definida cuando cumple con 3 de los criterios 1-4, Probable con dos criterios 1-4 y posible con uno de los criterios 1-4 (tabla 2) ⁽²⁾⁽³⁾.

**Tabla 2. Criterios para la definición de Polimiosítis-
Dermatomiositis**

- 1. Debilidad simétrica de músculos de cinturas y flexores anteriores de cuello que progresa a lo largo de semanas o meses, con disfagia o sin ella o compromiso de la musculatura respiratoria**
- 2. Examen histológico del músculo que muestra signos de necrosis de fibras musculares tipo I y II, núcleos del sarcolema grandes, atrofia perifascicular, exudado inflamatorio.**
- 3. Elevación sérica de las enzimas del músculo**
- 4. Triada electromiográfica constituida por unidades motoras polifásicas cortas y de baja amplitud, ondas positivas e irritabilidad de la inserción y descargas abigarradas de alta frecuencia.**
- 5. Lesiones cutáneas con coloración violácea de párpados con edema periorbitario, dermatitis eritemato-descamativa de dorso de las manos especialmente sobre las articulaciones, especialmente sobre metacarpofalángicas e interfalángicas proximales**

Existe también una clasificación clinicopatológica de las miopatías inflamatoria, esta surge a porque a las anteriores escapan otros tipos como la miopatía por cuerpos de inclusión.

Con parámetros histopatológicos se define la DM como una microangiopatía mediada por complemento con infiltrados inflamatorios secundarios a isquemia y anticuerpos específicos de miositis, casi siempre crónica o recidivante (92%) y con buena respuesta inicial a glucocorticoides (87%).⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾

EL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD

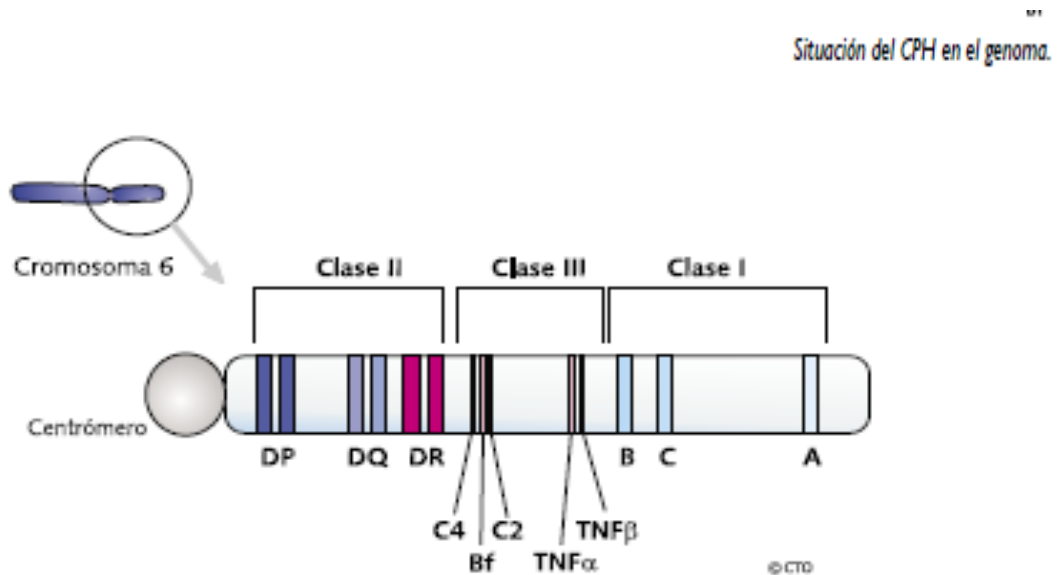
La discriminación entre lo propio y lo extraño es esencial para que el Sistema Inmune pueda destruir cualquier agente invasor, una vez reconocido como ajeno al organismo.

Los linfocitos T no son capaces de reconocer directamente a los antígenos, sino que les tienen que ser entregados por las llamadas células presentadoras de antígenos. Al entrar sustancias extrañas en el organismo, son endocitadas y procesadas por células del sistema monocito-macrófago y expuestas en la cara externa de su membrana plasmática asociado a unas proteínas de la membrana: el HLA. Este complejo HLA-péptido antigénico puede ser ya identificado por los linfocitos T por medio de su receptor específico (RCT), una vez realizado el reconocimiento del antígeno se desencadena la respuesta inmune.

Se han descrito antígenos de histocompatibilidad en todos los vertebrados estudiados. En el hombre, inicialmente las moléculas del complejo recibieron el nombre

de antígenos HLA, por **H**uman **L**eucocyte **A**ntigen (antígenos leucocitarios humanos) y todavía se usa como sinónimo de CPH.

El núcleo central del sistema genético que codifica el complejo CPH en el hombre está situado en el brazo corto del cromosoma 6 (Imagen 1).



Moléculas CPH de clase I y de clase II.

Las moléculas CPH son glicoproteínas de membrana compuestas de dos cadenas que se clasifican en:

- **CPH de clase I**, se encuentran en la membrana de prácticamente todas las **células nucleadas y plaquetas**, están compuestos por una cadena pesada (alfa) y una cadena ligera constante, la Beta2-microglobulina.
- No expresan CPH de clase I: hematíes, sincitiotrofoblasto y algunos escasos timocitos.

Las moléculas CPH de clase I mejor conocidas son HLA-A, HLA-B y HLA-C. El gen de la beta-2-microglobulina es el único que codifica parte del CPH y no se encuentra en el complejo CPH del cromosoma 6 (está en el cromosoma 15).

- **CPH de clase II**, presentes en la superficie de las células presentadoras de antígenos: las del sistema mononuclear fagocítico y los linfocitos B. Están formados por una cadena alfa y otra cadena beta. Las tres clases de moléculas CPH de clase II más conocidas son HLA-DR, HLA-DP y HLA-DQ.⁽⁷⁾

Las moléculas CPH forman parte de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Sus aminoácidos se disponen formando dominios globulares similares a los que forman las IG. Concretamente, cada molécula CPH forma 4 dominios de IG extracelulares, dos externos y dos internos.

Los dos dominios externos de las moléculas CPH se encuentran plegados formando una especie de canal, que constituye el sitio de unión de los péptidos naturales.

Las diferencias existentes entre los diversos antígenos de histocompatibilidad residen sobre todo en los dominios externos y constituyen la base del polimorfismo HLA.

El hecho de que los linfocitos T no reconozcan al antígeno más que en combinación con moléculas HLA, añade a la fase de reconocimiento inmunitario un grado adicional de complejidad que puede tener repercusiones funcionales.

Genética del sistema HLA.

Los genes CPH se localizan en un segmento del brazo corto del cromosoma 6 humano. Entre los genes de clase I (A, B, C) y los de clase II (DR, DP, DQ) se encuentra un grupo de genes que gobierna la síntesis de ciertos productos del sistema del complemento (factor B, C2 y C4) y los genes del citocromo P450 de la 21-hidroxilasa suprarrenal; se les conoce por genes de clase III.

Los antígenos CPH se expresan de forma codominante.

El fenotipo CPH es la simple enumeración de los antígenos definidos en un individuo (A3, A29, B7, B44, Cw1, Cw3, DR2, DR7, DPw1, DPw1, DQ1, DQ2). Si se conocen los antígenos que corresponden a cada cromosoma, se puede definir el genotipo. La mitad del genotipo, es decir, lo que corresponde a cada uno de los cromosomas o, lo que es lo mismo, lo que cada individuo hereda de cada progenitor, se denomina haplotipo. En el ejemplo anterior, A3, B7, DR2 conforman un haplotipo y A29, B44, DR7 el otro (hemos considerado solo A, B y DR para más simplicidad).

Susceptibilidad genética.

La ocurrencia de casos de miositis inflamatoria en gemelos idénticos que viven en diferentes lugares señala la posibilidad de susceptibilidad genética ⁽⁸⁾ ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾.

Se cree que ciertos subtipos de HLA confieren susceptibilidad para la PM y la DM. Ejemplo de esto es la asociación de estas patologías con HLA DRB1*03 en población caucásica y de HLA DRB1*14 en coreanos

En población japonesa se ha descrito asociación entre DM juvenil y el alelo DRB1*15021.⁽¹¹⁾

Un reporte reciente muestra una importante asociación entre el haplotipo HLA A1; B1; DR3*03 más el alelo TNF2 con el desarrollo de PM y DM.

Existe un estudio de casos y controles realizado en 193 pacientes caucásicos adultos con diagnóstico de Dermatomiositis primaria idiopática en busca de alelos HLA en común, con 797 controles de la misma raza y edad, reportando los siguientes resultados: El HLA-DRB1 * 0301 fue un alelo principal factor de riesgo (odds ratio [OR] 3,9), mientras que para el alelo DQA1 * 0301 se reportó (OR 2,8), sin embargo no comenta en qué porcentaje fue la frecuencia de los alelos en la población enferman y en la población normal .⁽¹²⁾⁽¹³⁾

Existe la descripción de HLA en mestizos mexicanos sanos, separándolos en 3 regiones, Norte, Costa y centro/sureste, siendo ésta última la región en dónde se realizará el estudio, encontrando aquí la frecuencia del alelo HLA-DRB1 * 0301, en un 10.5%.⁽¹⁴⁾

Inmunopatogenia

La DM comienza cuando supuestos antígenos blanco (no identificados) de la célula endotelial son atacados por anticuerpos, activando el complemento (C'). Esto induce liberación de citoquinas y quimioquinas, aumento de la expresión de moléculas de

adhesión y, por lo tanto, migración al espacio perimisial y endomisial de linfocitos T CD4+ que continúan liberando citoquinas proinflamatorias que magnifican y perpetúan el proceso, linfocitos B secretores de anticuerpos patogénicos y macrófagos también secretores de citoquinas. Este es un infiltrado característico de respuesta inmune humoral. Este proceso induce inflamación endotelial, necrosis capilar, isquemia y destrucción de las fibras musculares. Con ello se produce hipoperfusión endofascicular y atrofia perifascicular. Como resultado de la isquemia, los capilares restantes se dilatan compensatoriamente, lo que es evidente en la anatomía patológica ⁽¹⁵⁾.

Epidemiología

La incidencia global de las miopatías inflamatorias se reporta en rangos de 2–10 casos por millón de habitantes por año. La mayoría de los estudios realizados son en poblaciones anglosajonas y utilizan los criterios de clasificación de Bohan y Peter. Se han encontrado reportes de hasta 4,9 a 8,4 casos/millón asociados a mayor sospecha clínica y mejoría de técnicas diagnósticas más que aun incremento real de la incidencia misma. La prevalencia se estima en 8/100.000 habitantes. Se sabe que el patrón de incidencia cambia de acuerdo con los grupos de edad, sexo y grupo étnico

En el caso de dermatomiositis en el adulto existen reportes de 0.5 casos por millón de habitantes año, con Prevalencia de 10 casos por millón de habitantes. Es dos veces más frecuente en mujeres que en varones, sin embargo el rango se iguala en los ancianos ⁽¹⁵⁾.

Autoanticuerpos

Los autoanticuerpos que se pueden encontrar en las miopatías inflamatorias autoinmunes son varios, y se clasifican en anticuerpos específicos de miositis y anticuerpo asociado a miositis.

El Jo-1 es un autoanticuerpo altamente específico de DM y PM y el más prevalente, Se asocia a síndrome antisintetasa y específicamente a daño pulmonar ⁽¹⁶⁾. Se forma contra la enzima His-t-RNA-sintetasa, aparentemente de localización citoplasmática, proceso gatillado, de acuerdo a algunas teorías, por infecciones virales.

El reconocimiento de His-t-RNA-sintetasa podría ser el iniciador de la respuesta inmune según algunas publicaciones.

Los anticuerpos anti-Mi-2 están presentes en el 10% de los pacientes con DM y se relacionan con una favorable respuesta terapéutica.

JUSTIFICACIÓN

Aunque la Dermatomiositis idiopática primaria es una enfermedad autoinmunitaria con baja prevalencia, su impacto a nivel familiar, laboral y social en los mexicanos en mayúsculo.

Existe fuerte evidencia de que el rol genético juega un papel trascendental en la patogénia de la enfermedad, ya que se han desarrollado estudios similares en población caucásica, arrojando asociación del alelo DRB1*0301 con factor de riesgo para desarrollo de dermatomiositis primaria idiopática, sin embargo no se cuenta con estudios de haplotipos en pacientes mexicanos.

En el estudio de las alteraciones inmunológicas en dermatomiositis, se han reconocido anormalidades características en las respuestas humoral y celular que la definen como un padecimiento autoinmune. Ejemplo de lo primero, es la expresión de autoanticuerpos altamente específicos, estos han mostrado tener una asociación definida tanto clínica como inmunogenética.

El conocimiento del HLA relacionado a dermatomiositis idiopática primaria en mestizos mexicanos nos puede traer la posibilidad de una herramienta diagnóstica en casos cuyo diagnóstico es motivo de discusión, por ejemplo de la variedad amiopática, la cual ha sido motivo de controversia debido a que no cumple estrictamente los criterios propuestos originalmente en 1975, dado que los pacientes amiopáticos tienen esencialmente los cambios cutáneos descritos, con mínima o sin evidencia clínica de compromiso muscular ⁽¹⁷⁾.

OBJETIVO

Describir las características de HLA en población mestiza mexicana del centro de la república con y sin diagnóstico de dermatomiositis idiopática primaria.

MATERIAL Y METODOS

Pacientes mestizos mexicanos con diagnóstico de dermatomiositis idiopática primaria, de acuerdo a los criterios de clasificación de Bohan y Peter del centro de la república, y que cumplían de acuerdo al instituto nacional de antropología la definición de un mestizo mexicano es la persona que ha nacido en territorio mexicano teniendo antecedente de ancestros mexicanos de por lo menos tres generaciones ⁽¹⁴⁾.

Se incluyeron 14 casos, pacientes (hombres y mujeres), entre las edades de 18 a 60 años, referidos a la consulta externa del servicio de Reumatología del Hospital Juárez de México en el periodo que comprende del 1º. De Julio del 2009 al 1 de Julio del 2010 con diagnóstico inicial de Dermatomiositis, en cualquier etapa de la enfermedad, con o sin tratamiento.

Los controles fueron representados por 49 hombres y mujeres, sanos mayores de 18 años a los cuales se les tomó HLA como protocolo de donador renal vivo relacionado.

METODOLOGÍA DEL LABORATORIO

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

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

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

PASOS PARA LA EXTRACCION DE DNA ⁽¹⁸⁾ ⁽¹⁹⁾ ⁽²⁰⁾

TODO FUE MANEJADO CON GUANTES

A) LÍsis:

I) De sangre periférica fresca:

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

2. Se Centrifugó a 3,000 rpm durante 10 – 15 min a 4° C.
3. Se Tomó la capa de glóbulos blancos (buffy coat) de la superficie del paquete (sin importar que haya eritrocitos) y pasarla a un tubo de 10 – 15 ml.
4. Se Llenó el tubo con 8 a 10 ml de amortiguador de lisis para glóbulos rojos (RCLB), y

Se mezcló cuidadosamente.
5. Se Centrifugó 15 min a 3000 rpm a 4 °C.
6. Se eliminó el sobrenadante de los eritrocitos lisados.
7. Se añadió nuevamente 8 a 10 ml de RCLB.
8. Se centrifugó 15 min a 3000 rpm a 4 °C.
9. Se descartó el sobrenadante.
10. El botón de células blancas resultante puede ser congelado del modo habitual a –196 °C en N₂ líquido, si se conserva a –70°C, la extracción del DNA se deberá hacer en el lapso no mayor de un mes.
11. Resuspender el botón de leucocitos en 1 ml de SSC 1X.
12. Se Añadió el amortiguador de lisis para glóbulos blancos (WCLB), 4 ml.
13. Se incubó toda la noche a 53°C en baño maría, si es posible utilizar un agitador rotatorio (50 rpm).
14. Después de este paso se usó el protocolo de extracción de fenolcloroformo.

II) De líneas celulares y linfocitos congelados:

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

B) Extracción con fenol/cloroformo:

1. Añadir un volumen equivalente (V/V) de una solución con fenol saturado.
2. Agitar 10 min manualmente de manera suave hasta obtener una emulsión completa.
3. Centrifugar 15 min a 3000 rpm a 4°C.
4. Colocar los tubos en hielo al terminar la mezcla.
5. Tomar la fase superior y pasarla a un tubo limpio (**Cuidado de no tomar la interfase**).
6. Hacer una segunda extracción con fenol saturado, de la misma manera.
7. Pasar la fase superior a un tubo limpio.
8. Hacer dos extracciones con fenol/cloroformo (V/V) centrifugando 15 min. a 3, 000 rpm a 4°C.
9. Pasar la fase superior a un tubo limpio.

10. Hacer una última extracción con cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) (V/V).

11. Centrifugar 15 min a 3,000 rpm a 4°C.

12. Pasar la fase superior a un tubo nuevo.

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

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

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

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

C) Precipitación con etanol absoluto:

1. Añadir NaCl 3M o 5M para obtener una concentración final de 100 mM.

2. Adicionar 2 volúmenes de etanol absoluto a -20°C.

3. Agitar suavemente hasta que se forme un precipitado blanco. La precipitación terminará cuando el precipitado flote (DNA).

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

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

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

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

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

D) Precipitación con isopropanol:

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

1. Al DNA extraído en 5 ml de solución se le agregan 170 ul de Na Cl 3 M ó 120 ul de NaCl 5M para obtener una concentración final 100 mM, más un volumen de isopropanol absoluto.

2. Se agita suavemente durante 20 min. hasta que se precipite el DNA.

3. Seguir como en el protocolo de precipitación con etanol absoluto

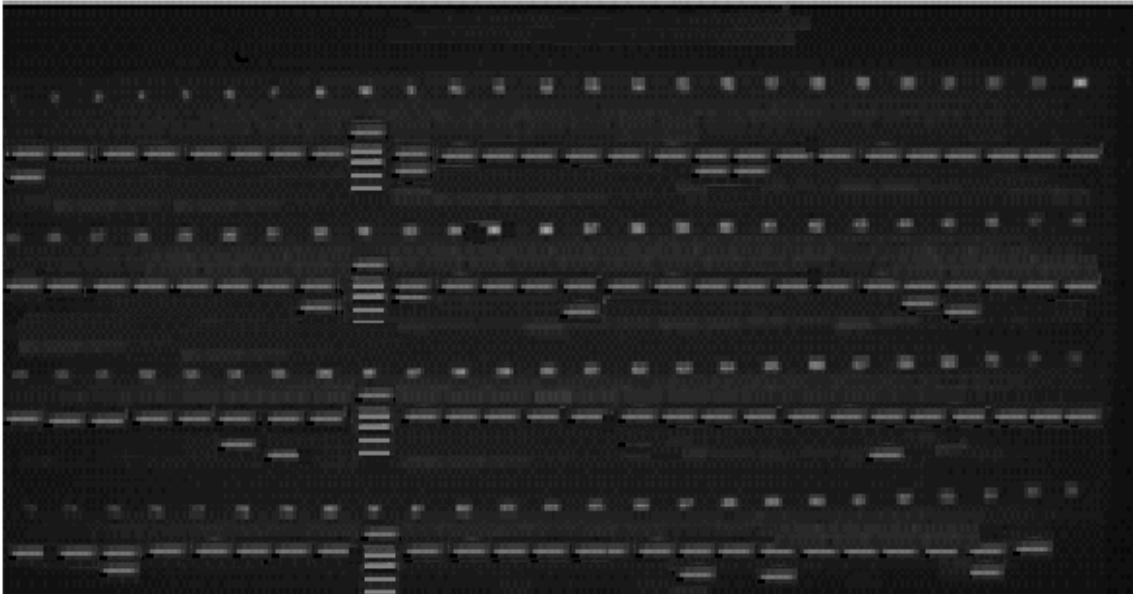
El siguiente paso fue la preamplificación de los productos de PCR, que se realizó utilizando el kit de ABDRDQ de invitrogen adicionando al master-mix/ PCR el DNA y la enzima

Taq polimerasa, en los 96 pozos, bajo flujo laminar. La amplificación de los productos de PCR, se realizó utilizando un protocolo estándar de 35 ciclos, en el termociclador (Nyxtechnik).

Por último la visualización de los productos de PCR obtenidos se observó en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio 2% (Imágen 2), se transfirieron al fotodocumentador para su análisis y asignación alélicas; ambos pasos fueron realizados en el fotodocumentador y software Dolphin doc (Imagen 3).

Imágen 2.

Gel de agarosa teñido con bromuro de etidio 2%, visualización del producto PCR de un paciente con diagnóstico de dermatomiositis primaria idiopática.



Imágen 3.

Asignación alélica representativa de un paciente con diagnóstico de dermatomiositis primaria idiopática.

Dynal Biotech, LLC

Kit Name: ABDRDQ024v1_200601 Sample ID: MARIA

Institution Name

Tel 1: Tel 2: Fax:

Email: Web Address:

Sample ID:		Kit Name:	ABDRDQ024v1_200601
Last Name:	ORTEGA	Kit Batch #:	488200
First Name:	MARÍA	Kit Expires:	20/06/2010
Ethnic Group:	meztizo-mexicano	DNA Ext. Method:	
Donor/Patient:	Patient	DNA Quality:	
Purpose of Test:		DNA Concentration:	
Test Date:	18/05/2010	Review Date:	
Test By:	ELY	Reviewed By:	
Comments:	PACIENTE DE DERMATOMIOSITIS		

Serology Results							
HLA-A:	2,10	B:	27,62	C:		Bw:	
DR:	4,14	DQ:	4,6	51/52/53:			

Positive Lanes: 7,12,25,30,32,38,48,54,55,59,62,63,68,86,91,

Allele 1	Serology 1	Allele 2	Serology 2
A*02010101-02/04-22/24/26-33/36/37/39-49/51-55/57-61/63-72/7401-77/79-87/89/90	A2, A210, -	A*2502	A10
B*15010101/010102N/0103/0105/04/07/12/14/19/26N/27/30/32-35/38/45/50/60/63/70/71/73/75/77-79N/81/82/85/92/94N/96/97, B*9502/04/05/09	B62(15), Null, B76(15), B15, -	B*2701/02/30	B27, -
DRB1*040101-11/13/14/16/17/19-21/23/26/27/29-34/36-41/44-56	DR4, -	DRB1*1410	DR14(6)
OR			
DRB1*1410	DR14(6)	-	-
DQB1*0401/02	DQ4	DQB1*060101-27	DQ6(1), -, DQ1

RESULTADOS

Los alelos HLA presentes en cada paciente fueron incluidos para su análisis estadístico en la tabla 3.

	DRB1*040101	DRB1*0809/21	DQB1*050101-04	DQB1*060101-21
	DRB1*040101	DRB1*090102-05	DQB1*030302/0303	
	DRB1*040101	DRB1*1418/39	DQB1*030101/01	
	DRB1*0422/24	DRB1*1415	DQB1*0401/02	
	DRB1*010101-	DRB1*140101	DQB1*0401/02	
	DRB1*040101	DRB1*1410	DQB1*0401/02	
	DRB1*090102-	DRB1*1317	DQB1*030101/01	DQB1*0401/02
	DRB3*010101-	DRB5*010101-13	DQB1*0401/02	
	DRB1*040101	DRB1*130301	DQB1*030302/03	DQB1*0401/02
	DRB1*1311/14	DRB1*100101/01	DQB1*030302/03	DQB1*0401/02
	DRB1*040101	DRB1*030101/01	DQB1*020101-04	DQB1*0401/02
	DRB1*070101	DRB1*1109/10/12	DQB1*050101-04	DQB1*060101-21
	DRB1*040101	DRB1*160101-05-	DQB1*030302/0303/	DQB1*030302/0303
N: 14	DRB1*130501	DRB1*0308	DQB1*020101-04	DQB1*030201/02

Tabla 3

En nuestra muestra encontramos los alelos DQB1*040102 y DRB1*040101 con frecuencia de 7 respectivamente, se realizó riesgo relativo de expuestos y X^2 , con el software STATA. Expresamos los resultados en la tabla 4.

Tabla4	ALELO HLA	OR	IC 95%	X^2	p
	DQB1*040102	7.16	1.8 A 27.6	7.31	0.007
	DRB1*040101	4.44	1.2 A 15.8	4.2	0.04

DISCUSION

Al realizar el presente trabajo se encontró en nuestro grupo de estudio (mestizos mexicanos con diagnóstico de dermatomiositis) la asociación con el siguiente alelo: HLA DRB1*04, Estudios previos en mestizos mesoamericanos se encontró este mismo alelo en el 52 por ciento de los pacientes que desarrollaron anticuerpos anti Mi 2 ⁽¹⁶⁾.

También encontramos asociación significativa con el alelo DQB1*040102, esto sugiere la probabilidad de que la expresión de miopatía inflamatoria autoinmune es modulada por diferentes genes y exposiciones ambientales.

Aunque el número de nuestro grupo de investigación fue pequeño, estos datos representan el primer reporte de alelos relacionados con dermatomiositis primaria idiopática en mestizos mexicanos del centro de la república.

CONCLUSIÓN

Nuestro estudio nos permite identificar asociación entre factores genéticos (riesgo relativo indirecto) y el desarrollo de Dermatomiositis primaria idiopática.

Encontramos que existe 7.16 % más posibilidad de desarrollar la enfermedad si se cuenta con el Alelo DQB1*040102, o bien, dicho de otra forma si eliminamos la exposición en el grupo expuesto evitaremos el 7.16 % de los casos de dermatomiositis idiopática primaria.

Para el alelo DRB1*040101 encontramos 4.44% más posibilidad de desarrollar la enfermedad si se encuentra en el grupo expuesto.

Entre los sesgos de nuestro estudio tienen 2 orígenes principales: el hecho de que el muestreo de los casos y los controles se hayan efectuado por separado y en el carácter retrospectivo de la medición de las variables predictoras.

Sin embargo es la primero en proponer factor etiológico genético para Dermatomiositis en pacientes mestizos mexicanos. Se propone como estudio inicial para más estudios al respecto.

RESUMEN

Las miopatías inflamatorias idiopáticas son un grupo heterogéneo de enfermedades autoinmunitarias adquiridas del músculo estriado que se caracterizan por debilidad muscular, elevación de enzimas musculares, anomalías electromiográficas e identificación de infiltrado inflamatorio en la biopsia muscular. En este grupo se incluyen la polimiositis, la dermatomiositis y la miositis por cuerpos de inclusión. Se consideran dentro del grupo de enfermedades autoinmunitarias poco frecuentes debido a su baja incidencia global de 2 a 10 x 10⁶ casos por habitante por año, y presentan diferentes patrones clínicos por edad, sexo y raza.

La etiología se considera desconocida, siendo los factores genéticos, aunados a la exposición de algunos agentes ambientales, los que pudieran desencadenar una respuesta autoinmunitaria teniendo como órgano diana el músculo esquelético.

Investigamos las características genéticas de pacientes con dermatomiositis primaria idiopática en mestizos mexicanos e identificamos relación con los siguientes alelos: DRB1*040101 con odds ratio de 7.16, intervalo de confianza de 1.8 a 27.6 con p=0.007 y DQB1*040102. Con odds ratio de 4.44, intervalo de confianza de 1.2 a 15.8 con p=0.04.

Este es el primer estudio del genotipo de ésta población.

ABSTRACT

Idiopathic inflammatory myopathies are a group of heterogeneous striated muscle acquired auto immune diseases, characterized by progressive muscle weakness, elevated serum levels of muscle enzymes, electromyographic abnormalities and inflammatory infiltrates on muscle biopsy. This group of diseases comprises polymyositis, dermatomyositis and inclusion-body myositis. They are considered rare autoimmune diseases, with a overall incidence range of 2 to 10 new cases per million persons at risk per year, with differences in distribution according to age, gender and race.

Their etiology is largely unknown, but it likely involves both genetic and environmental factors that contribute to autoimmune disorders, with striated muscle as a common target.

We investigated the genetic characteristics of patients with primary idiopathic dermatomyositis in Mexican mestizos identified under the following alleles DRB1 * and DQB1 * 040 102 040 101.

This is the first study of genotype of this population.

BIBLIOGRAFIA

1. Bohan AP, Peter JB. Polymyositis and dermatomyositis (parts 1 and 2)1975. N. Engl. J. Med. 292:344.
2. Fernández L. Manifestaciones Clínicas y patológicas de las miopatías inflamatorias. Tratado hispanoamericano de Reumatología; 2007 (pt 2): 935-949.
3. Troyanov Y, Targoff IN, Tremblay JL, Goulet JR, Raymond Y, Senécal JL. Novel classification of idiopathic inflammatory myopathies based on overlap syndrome features and autoantibodies: analysis of 100 French Canadian patients. *Medicine (Baltimore)*. 2005 Jul; 84(4):231-49.
4. Love LA, Leff RL, Fraser DD. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: Myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Medicine (Baltimore)* 1991; 70:360-374.
5. Ruddy, Harris, Jr. Sledge, Budd. Tratado de Reumatología Kelley's, 8va Ed. 2008; 918.
6. Tanimot K, Nakano K, Kano S, Mori S, Ueki H, Nishitani H, et al. Classification criteria for polymyositis and dermatomyositis. *J Rheumatol*. 1995 Apr;22(4):668-74. Erratum in: *J Rheumatol* 1995 Sep;22(9):1807.
7. Abbas AK. Lichtman AH, Pillai Shiv. *Inmunología celular y molecular*. 6ta Ed. 2008: 59-95.

8. Callen JP. Quimerismo en los niños con dermatomiositis juvenil. *La n c e t* 2000; 355: 53 – 57.
9. Tezak Z. Gene Expression Profiling in DQA1*0501 Children with Untreated Dermatomyositis: A Novel Model of Pathogenesis. *Arthritis Rheum.* 2006; 44:S293.
10. Rider LG, Gurley JP, Pandey I, Garcia de la Torre AE, Kalovidouris E, O'Hanlon LA et al. Clinical, serologic, and immunogenetic features of familial idiopathic inflammatory myopathy. *Arthritis Rheum.* 1998; 41:710.
11. Furuya T. Association of HLA class 1 and class 2 alleles with myositis in Japanese patients. *J Rheumatol* 1998; 25:1109-1114
12. O'Hanlon TP, Carrick DM, Targoff I. Immunogenetic risk and protective factors for the idiopathic inflammatory myopathies: Distinct HLA-A, -B, -Cw, -DRB1, and -DQA1 allelic profiles distinguish European American patients with different myositis autoantibodies. *Medicine (Baltimore)* 2006; 85:111-127.
13. O'Hanlon TP, Rider LG, Mamyrova G, et al: polymorphisms HLA in African Americans with idiopathic inflammatory myopathy: Allelic profiles distinguish patients with different clinical phenotypes and myositis autoantibodies. *Arthritis Rheum* 2006; 54:3670-3681
14. Gorodezky C, Alaez C. THE STRUCTURE OF MEXICAN MESTIZOS OF DIFFERENT LOCATIONS. *Human Immunology* 2001; 62: 979-991.
15. Irazoque F, Barragán Y. Epidemiología, etiología y clasificación. *ReumatolClin.* 2009;5(S3):2–5.

16. Ejaz A, Shamim LG, Rider J, Terrance P, O'Hanlon TP, Jara LJ, Et al. Differences in Idiopathic Inflammatory Myopathy Phenotypes and Genotypes Between Mesoamerican Mestizos and North American Caucasians. *Arthritis Rheum.* 2002 Jul; 46(7):1885–1893
17. Caproni M, Cardinali C. Dermatomiositis amiopática, una revisión del grupo mexicano de inmunodermatología *Archives of Dermatology* 2002; 138:23:27
18. Danovitch GM. "Traspañte Renal" 3ª Ed; Marben, 2002, España.
19. Kissmeyer – Nielsen. "Histocompatibility Techniques" 1ª Ed; 1979 Elsevier/North – Holland.
20. Mercuriali Z; "Manual de HLA por One Lambda" 1986, USA.

INDICE

AGRADECIMIENTOS.....	Pág.3
INTRODUCCION.....	Pág.4
OBJETIVOS.....	Pág.
MATERIAL Y METODOS.....	Pág.
RESULTADOS.....	Pág.
DISCUSIÓN.....	Pág.
CONCLUSION.....	Pág.
RESUMEN.....	Pág.
ABSTRACTA.....	Pág.
BIBLIOGRAFIA.....	Pág.