



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Asociación del polimorfismo de un solo nucleótido
rs3027898 localizado en *IRAK1* en pacientes con lupus
eritematoso sistémico pediátrico**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A :

Pedro Iván Garcés Camacho



**DIRECTOR DE TESIS:
Dra. Cecilia Contreras Cubas
CIUDAD DE MÉXICO, 2019**



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.

HOJA DE DATOS DEL JURADO.

1. Datos del alumno.

Garcés

Camacho

Pedro Iván

5567866783

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología.

309197566

2. Datos del tutor:

Dra. Cecilia

Contreras

Cubas

3. Datos del sinodal 1.

Dra. Sandra Luz

Gómez

Arroyo.

4. Datos del sinodal 2.

Dra. María Eugenia

Gonsebatt

Bonaparte.

5. Datos del sinodal 3.

Dra. Karla Itzel

Vázquez

Santillán

6. Datos del sinodal 4.

M.C Georgina

Nieto

Castañeda

7. Datos del trabajo escrito.

Asociación del polimorfismo de un solo nucleótido rs3027898 localizado en IRAK1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico pediátrico.

58.

2019.

Dedicatorias:

Después de tiempo, esfuerzo y esmero, se concluye esta etapa en mi vida; en la cual, agradezco con todo el corazón a mi mamá, pilar fundamental durante todas las etapas de mi vida, que por medio de su esfuerzo, consejos, oraciones, amor y confianza, aportaron en mí el sentimiento de superación, dedicación y entrega en lo que hago; gracias por tus desvelos a mi lado, apoyo y esfuerzo que pusiste para que nada me faltara desde las primeras etapas en mi vida. Gracias a ti, en parte soy lo que hasta ahora he logrado, sin duda, tendrás mi admiración, amor, respeto y gratitud por toda la vida. Pero sobre todo, por siempre creer y apoyarme en todas absolutamente todas las decisiones que he tomado y has sabido ser un apoyo fundamental en cada día de mi vida, gracias por tu ejemplo de amor y bondad que te caracteriza y espero algún día, igualar lo mínimo de ello.

A mi papá, por siempre haber procurado darnos todo lo necesario para ser lo que somos. Por tu esfuerzo inigualable de trabajo, consejos que ayudaron a trazar mis decisiones, por tus sabios ejemplos y deseos de superación que durante estos años y a través de tu ejemplo de vida, me enseñaste e hiciste de mí una persona que siempre busca esforzarme en lo que hago, por tu amor y por ser esa luz que guía mi camino.

A mi hermana, por su mano amiga, consejos, palabras de aliento, detalles de amor y por siempre estar para mí en todo momento, por siempre cuidarme y querer lo mejor para mi persona, pero más que nada, por la infancia tan bonita que pasamos juntos.

A mi cuñado Dagoberto, por su amistad y sentimiento de hermandad que me ha brindado desde el momento en que nos conocimos, por sus detalles de cariño y palabras de ayuda que me ha brindado siempre.

A mis abuelos, quienes forjaron en mí, un sentimiento de unidad y superación, por su ejemplo de amor hacia mi persona y por sus detalles que desde niño, tuvieron hacia mí. Sobre todo, por darme enseñanzas de trabajo y esmero en la vida. En especial, a mi abuelita Alicia, que desde donde está, sé que sigue cuidándome, inspirándome con su dulzura, amor y sonrisas que siempre llevaré en mi corazón, pues nunca olvido su frase “échale ganas hijo, tienes mucho por hacer”.

A mis tíos, primos y sobrinas, quienes han estado conmigo en todas las etapas de mi vida y han dejado huellas de felicidad en mi persona.

A mis hermanos, quienes sin duda, también han forjado mucho de mi persona, formación académica y superación profesional e intelectual, por enseñarme a usar las herramientas de la vida y así construir, trazar y moldear mi persona y así entregar lo mejor de mí hacia la sociedad.

A mis amigos que he conocido a lo largo de la vida profesional y personal, sin duda, su amistad, compañía y vivencias, dejan mucho en mi persona. En especial a Miguel, con quien desde hace doce años hemos logrado una amistad y hermandad verdadera, pues me ha brindado en todo momento su ayuda, cariño y apoyo incondicional.

A la Gran Logia Valle de México, al Supremo Consejo de México, pero muy en particular, con mucho cariño y respeto a la Academia de Janus; instituciones que me han entregado los instrumentos de trabajo, enseñanzas científicas, humanísticas y sociales, que han sido de ayuda en todo momento y circunstancia que la vida me ha presentado.

En especial, a aquellos que ya no están en este plano y en su momento compartimos vivencias, experiencias y aprendizaje ¡cuánto desearía que estuvieran presentes! Y vieran que cada palabra

que me regalaron, me sirvió en los momentos de dificultad, pues dichas palabras, fueron inspiración y motor en los momentos de dificultad. Siempre estarán en mi mente, inmortalizados en el edén y jardín de los recuerdos.

A todos los mencionados, les expreso mis más sinceros agradecimientos, cariño, amor, respeto, admiración y deseo que la vida les recompense con felicidad, todo lo bueno que me han regalado.

Agradecimientos:

- A la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme una de las más grandes experiencias en mi vida, al pertenecer a dicha institución y entregarme los conocimientos que me han servido en mi formación académica, personal, social y humanística y ahora darme la oportunidad de desarrollarme profesionalmente dentro de sus instalaciones.
- Al Instituto Nacional de Medicina Genómica, por permitirme el realizar servicio social, tesis de licenciatura y colaborar en sus proyectos de investigación, sin duda, el aprendizaje adquirido ahí, es de vanguardia y de relevancia para la formación profesional.
- A CONACyT, por los fondos aportados a la realización de este trabajo, bajo el proyecto CONACYT CB-2014, con número 243394.
- A la Dra. Cecilia Contreras Cubas, por amable y profesionalmente ser mi asesora de tesis, orientarme en servicio social, enseñarme todo lo relacionado al área genómica. Pero sobretodo, por la enorme calidez humana y profesional, así como por su invaluable apoyo, ayuda y consideraciones que tuvo hacia mi persona.
- A la Dra. Lorena Sofía Orozco Orozco, por permitir mi estancia en el Laboratorio de Inmunogenómica y enfermedades metabólicas, así como por su apoyo académico en la realización de esta tesis.
- Al Dr. Humberto García Ortiz, por brindarme su ayuda en verificar los análisis estadísticos y bases de datos, utilizados en este trabajo.
- A la M.C. Georgina Nieto Castañeda, por su ayuda a lo largo de la carrera, recomendaciones profesionales y orientación humanística que a su persona caracteriza y por dar ejemplo de quien es digno de llamarse Profesor.
- A los Doctores Alejandro Marche Cova, María del Carme Miñana Solís, Ana Barahona Echeverría, Antonio Lazcano Araujo, con quienes tuve el honor de tomar clase y a través de sus enseñanzas académicas, reafirme la convicción de dedicar mi vida a la ciencia, pues a través de su pasión por el conocimiento, adquirí las herramientas necesarias para la aplicación, enseñanza y divulgación científica, así como tener el criterio académico necesario para generarme el pensamiento crítico.
- A mis sinodales, las Dras. Sandra Luz Gómez Arroyo, María Eugenia Gonsebatt Bonaparte, Karla Itzel Vázquez Santillán y Georgina Nieto Castañeda, por su tiempo e revisar mi trabajo y sus valiosos comentarios en torno a esta tesis que sin duda, sirvieron y servirán en futuras ocasiones.

RESUMEN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune sistémica y crónica que afecta principalmente a las mujeres, en una relación mujer:hombre de 9:1. Del 10-20% del total de los casos con LES se presenta en edad pediátrica (LESp), iniciando frecuentemente entre los 12-16 años. Los pacientes con LESp muestran un curso clínico más grave y se genera una mayor afectación de órganos en comparación con pacientes con LES adulto. Esta enfermedad tiene una alta heredabilidad (60%) lo que, junto con la elevada concordancia en gemelos monocigóticos, sugiere una importante contribución genética en su desarrollo. Los estudios de asociación de genoma completo y de gen candidato, muestran que la mayoría de los genes asociados al LES participan en la respuesta inmune.

Una de las vías asociadas a LES más estudiada es la vía del interferón tipo I. Dentro de los genes de esta vía que se han asociado a LES, se encuentra la cinasa asociada al receptor de interleucina 1 (IRAK1). El polimorfismo rs3027898 (A/C), localizado en la región 3'-UTR de *IRAK1*, ha sido estudiado en población china con LES, tuberculosis pulmonar y artritis reumatoide; en población griega se ha descrito en pacientes con artritis psoriática, y no ha sido estudiado en la población mexicana.

En el presente estudio, se llevó a cabo la genotipificación del rs3027898 por el método de discriminación alélica por sonda TaqMan. Se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas de esta variante y se compararon con las previamente reportadas para otras poblaciones. Se observó que la población mexicana presenta una distribución alélica diferente a la de las otras poblaciones, presentando la mayor frecuencia del alelo C (61%), solamente por debajo de la población asiática (84%). Al comparar los genotipos, también se observó una elevada frecuencia de los homocigotos CC (48%) en la población control del presente estudio, incluso por arriba de los mexicanos residentes en Los Ángeles, California de la base de datos de 1000 genomas (22%). El análisis de asociación caso-control para LESp y nefritis lúpica (NL) se realizó mediante una regresión lineal logística, corrigiendo por género y por ancestría. El alelo C se asoció a riesgo para

LESp, pero no para NL. El análisis de desequilibrio de transmisión mostró una tendencia a la sobretransmisión del alelo de riesgo C de padres a hijos.

En conclusión, en la población mexicana se encontró que el alelo C del polimorfismo rs3027898, localizado en *IRAK1*, se encuentra enriquecido en la población mexicana y que este se asocia al riesgo para LESp.

ABREVIATURAS.

3'UTR: región 3'- no traducida (por sus siglas en inglés: Untranslated Region).

ADN: Acido Desoxirribonucleico.

ACR: Colegio Americano de Reumatología (por sus siglas en inglés: American College of Rheumatology).

AIMs: Marcadores Informáticos de Ancestría (por sus siglas en inglés: Ancestry Informative Markers).

ANA: Anticuerpos Antinucleares.

AR: Artritis Reumatoide.

BANK1: Proteína acarreadora con Repetido Ankyrin de Células B (por sus siglas en inglés: B-cells Acaffold Protein with Ankyrin Repeats).

BCR: Receptor de Células B (por sus siglas en inglés: B- cell Receptors).

CD: Células Dendríticas.

cDNA: ADN complementario (por sus siglas en inglés: Complementary DNA).

CMN: Células Mononucleares.

CNV: Variantes en el Número de Copias (por sus siglas en inglés: Copy Number Variation).

DL: Desequilibrio de Ligamiento.

dsDNA: ADN de doble cadena (por sus siglas en inglés: double Strand DNA).

FCGR2A: Fragmento FC de IgG, Receptor de baja afinidad IIa (CD32) (por sus siglas en inglés: FC fragment of IgG, low affinity IIa, Receptor for (CD32).

gDNA: ADN genómico (por sus siglas en inglés: Genomic DNA).

GWAS: Estudios de Asociación de Genoma Completo (por sus siglas en inglés: Genome Wide Associated Studies).

IC: Intervalo de Confianza.

IFN-I: Interferón tipo I.

IFNAR: Receptor de Interferón α/β (por sus siglas en inglés: Interferon α/β Receptor).

IRAK1: Cinasa Asociada al Receptor de Interleucina 1 (por sus siglas en inglés: Interleukin-1 Receptor Associated Kinase).

IRF: Factor Regulante de Interferón (por sus siglas en inglés: Interleukin Receptor Associated Kinase).

ISRE: Elementos de Respuesta Estimulados por Interferón (por sus siglas en inglés: Interferon Stimulated Response Elements).

ITGAM: Integrina Alpha M (por sus siglas en inglés: Integrin Alpha M).

JACK1: Janus Cinasa 1 (por sus siglas en inglés: Janus Kinase 1).

LES: Lupus eritematoso sistémico.

LESa: Lupus eritematoso sistémico adulto.

LESp: Lupus eritematoso sistémico pediátrico.

MECP2: Proteína de unión a sitios CpG metilados tipo 2 (por sus siglas en inglés: Methyl CpG Binding Protein 2).

miRNA: microRNA.

mRNA: ARN mensajero.

MyD88: Respuesta Primaria de Diferenciación Mieloide 88 (por sus siglas en inglés: Myeloid Differentiation Primary Response 88).

NL: Nefritis lúpica.

OR: Razón de momios (por sus siglas en inglés: Odds Ratio).

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (por sus siglas en inglés: Polymerase Chain Reaction).

PTPN22: Proteína Fosfatasa Tirosina, No Receptor tipo 22 (por sus siglas en inglés: Protein Tyrosine Phosphatase Non-Receptor Type 22)

qPCR: PCR cuantitativa/PCR en tiempo real (por sus siglas en inglés: Quantitative PCR).

RBC: Solución de lisis de glóbulos rojos (por sus siglas en inglés: Red Blood Cell Lysis Buffer).

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido (por sus siglas en inglés: Single Nucleotide Polymorphism).

STAT: Transductor de Señal y Activador de la Transcripción (por sus siglas en inglés: Signal Transducer and Activator of Transcription).

TDT: Análisis de Desequilibrio de Transmisión (por sus siglas en inglés: Transmission Disequilibrium Test).

TLR: Receptores Tipo Toll (por sus siglas en inglés: Toll Like Receptors).

WCBC: Solución de lisis de glóbulos blancos (por sus siglas en inglés: White Cells Lysis Buffer).

INDICE.

I	Antecedentes	14
I.1.	Lupus Eritematoso Sistémico	14
I.1.1.	Lupus Eritematoso Sistémico Pediátrico	16
I.2.	Fisiopatología de LES	18
I.3.	Genética del LES	19
I.3.1.	Genes asociados a LES	21
I.3.1.1.	Genes asociados a LESp en población mexicana	24
I.4.	Vía del IFN-I	25
I.4.1.	<i>IRAK1</i> y su estudio en LES	28
I.4.1.1.	El polimorfismo rs3027898	33
II	Justificación	35
III	Hipótesis	35
IV	Objetivos	
IV.1.	Objetivo general	35
IV.2.	Objetivos particulares	36
V	Procedimiento experimental	36
VI	Resultados	39
VI.1.	Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs3027898 en población mexicana y poblaciones continentales	39

VI.2.	Comparación de frecuencias alélicas y genotípicas del rs3027898 en pacientes con LES	42
VI.3.	Análisis de asociación caso-control con LESp	43
VI.4.	Análisis de asociación con NL	44
VI.5.	Análisis de TDT para el SNP rs3027898	45
VII	Discusión	46
VIII	Conclusiones	49
IX	Referencias	50

I Antecedentes

I.1. Lupus Eritematoso Sistémico.

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune crónica que afecta a gran parte de órganos y tejidos. Se caracteriza por la pérdida de la tolerancia a los antígenos propios, así como la alteración de la respuesta inmunológica. La autoinmунidad humoral es característica de LES ya que la mayoría de los pacientes muestran anticuerpos anti-ADN de doble cadena (anti-ds-DNA, por sus siglas en inglés: anti-double strand DNA) y otros anticuerpos nucleares tales como anti-Ro, anti-La, anti-Sm, y anti-RNP ¹.

La tasa de incidencia de LES tiene un rango de 1 a 10 por 100, 000 personas al año y se presenta con una prevalencia de 1 caso por cada 2,500 individuos nacidos vivos, afectando principalmente a las mujeres, con una relación mujer: hombre de 3:1 antes de la pubertad y de 9:1 después de esta ². Se ha reportado que se presenta cuatro veces más en africanos-americanos comparado con europeos y norteamericanos ³.

En el LES se produce daño de diversos órganos, incluyendo la piel, las articulaciones e incluso el sistema nervioso. Sin embargo, los daños más comunes son las afectaciones renales; las características de las lesiones renales van de la proteinuria, hematuria e insuficiencia renal ⁴. Estos fenotipos se han asociado con niveles elevados de auto-anticuerpos, como por ejemplo, los anticuerpos anti-dsDNA encontrados en pacientes con glomerulonefritis.

Actualmente, el diagnóstico de LES está basado en los criterios establecidos por el Colegio Americano de Reumatología (ACR, por sus siglas en inglés: American College of Rheumatology) ⁵, el cual establece que para confirmar el diagnóstico de esta enfermedad, el paciente debe presentar por lo menos 4 de los 11 criterios enumerados en la Tabla 1.

Tabla 1. Criterios de clasificación de LES según la ACR.

Criterio	Definición
1. Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares, respetando los pliegues nasolabiales.
2. Erupción discoide	Zonas eritematosas elevadas con escamas queratósicas adherentes y taponamiento folicular. En las lesiones antiguas puede producirse cicatrización atrófica.
3. Fotosensibilidad	Erupción cutánea desproporcionada tras exposición a la luz solar.
4. Úlceras orales	Úlceras orales o nasofaríngeas, normalmente indoloras.
5. Artritis	Artritis no erosiva en dos o más articulaciones periféricas, con inflamación, derrame sinovial o dolor a la palpación.
6. Serositis	Pleuritis Pericarditis
7. Nefropatía	Proteinuria persistente superior a 0.5 g/día 0>3+ si no se ha cuantificado. Cilindruria de hematíes o hemoglobina, cilindros granulosos, tubulares o mixtos.
8. Alteración neurológica	Convulsiones Psicosis
9. Alteración hematológica	Anemia hemolítica con reticulosis Leucopenia <de 4.000/mm ³ en ≥ 2 ocasiones Linfopenia < de 1.500/mm ³ en ≥ 2 ocasiones Trombocitopenia < de 100.000/ mm ³ no secundaria a fármacos
10. Alteración inmunológica	Anticuerpos anti-DNA Anticuerpos anti-Sm Anticuerpos anti-APL basado en: a) Anticuerpos anticardiolipinas IgG o IgM (+) a títulos medios o altos. b) Anticoagulante lúpico (+)
11. Anticuerpos	Anticuerpos ANA capaces de producir lupus inducido por los mismos.

Sm: Smith. Anticuerpos anti-proteína ribonucleica. **APL:** Anticuerpos anti-fosfolípicos. **IgG/M:** Inmunoglobulina G/M. **ANA:** Anticuerpos anti-nucleares. Modificado de ⁵

Una de las manifestaciones más severas del LES es la nefritis lúpica (NL), que sigue siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad, ya sea como efecto secundario o como resultado de la intensa toxicidad de los fármacos inmunosupresores utilizados en el tratamiento del LES ⁶⁻⁹. Se ha reportado que la población europea

presenta una menor frecuencia de daño renal (20-45%)^{9,10}, mientras que del 50-70% de pacientes con LES son individuos africanos, asiáticos e hispanos¹¹.

De acuerdo a la edad de inicio de la enfermedad, el LES se ha clasificado en pediátrico (LESp) cuando la enfermedad de inicio es antes de los 16 años de edad, y en adulto (LESa) cuando se manifiesta después de esta¹².

I.1.1. Lupus Eritematoso Sistémico Pediátrico.

El LESp tiene una incidencia anual de 0.36 a 0.9 por cada 100,000 niños nacidos vivos, y una prevalencia que varía considerablemente según el origen étnico de 3.3 a 24 por cada 100,000 niños¹²⁻¹⁵. Del total de casos con LES, aproximadamente del 10-20% son pacientes pediátricos. El LESp se manifiesta con mayor frecuencia entre las edades de 12-16 años; pocos casos se llegan a dar antes de los 10 años, y aún son más raros los casos que se presentan antes de los 5 años. Las manifestaciones en los pacientes pediátricos son más agudas y graves que en los adultos, lo que puede comprometer en mayor medida la vida de los individuos. Éstas comienzan con complicaciones renales, neurológicas, hematológicas y atípicas (frecuentemente abdominales).¹⁶

En el LESp son más comunes los síntomas sistémicos, como la fiebre, la fatiga y la linfadenopatía, los cuales se presentan en casi el 90% de los niños diagnosticados¹⁷. El eritema, comúnmente llamado de mariposa, puede desarrollarse con mayor frecuencia en niños con lupus, mientras que en adultos la aparición subaguda cutánea o lupus discoide es más común.

Como se ha mencionado anteriormente, dentro de las afecciones más graves en LES destaca la NL, ya que aproximadamente el 60% de los pacientes la desarrollan dentro de los 3 primeros años de diagnóstico¹⁸. Según los estudios de cohortes descritas hasta la actualidad, la frecuencia del involucramiento renal en pacientes con LESp es particularmente alta (50-80%). En contraste, en pacientes adultos la frecuencia de casos con esta afectación renal disminuye (menos del 30%)^{9,19,20}. Las

complicaciones hematológicas también aparecen con regularidad en los pacientes pediátricos y pueden preceder su aparición en adultos por años. Además, un porcentaje significativo de pacientes con LESp presentan artritis, así como poliartritis inflamatoria, la cual es típicamente no erosiva ²¹. La manifestación pulmonar inflamatoria más común es la pleuritis, mientras que la neumonitis difusa, hemorragia alveolar y la enfermedad pulmonar intersticial son muy raras en pacientes con LESp ²². Algunos ejemplos de las diferencias en las manifestaciones clínicas entre pacientes con LESp y LESa se encuentran resumidas en la Tabla 2.

Tabla 2. Diferencias en las características clínicas de inicio de LESp y LESa.

Características clínicas	Pacientes pediátricos con inicios de LES (%)	Pacientes adultos con inicios de LES (%)
Fiebre	20-67	43-55
Linfoadenopatía	6-36	0-1
Erupción malar	22-79	35-59
Lupus discoide	0-19	3-29
Úlceras orales	9-49	13-40
Fotosensibilidad	23-53	20-57
Artritis	22-88	67-94
Nefropatía	67-82	33-53
Pericarditis	16-26	13-33
Pleuritis	6-48	6-33
Enfermedades neuropsiquiátricas	15-95	33-60
Leucopenia	46-64	41-57
Trombocitopena	25-37	6-25
Anemia hemolítica	10-76	3-13

Tomada y modificada de ²³.

También se observan diferencias en los niveles de anticuerpos séricos entre los pacientes con LESp y LESa. Por ejemplo, en algunos estudios se sugiere que los anticuerpos anti-nucleares (ANA, por sus siglas en inglés: Antinuclear Antibody) están presentes en mayor proporción en pacientes pediátricos que en adultos ²⁴; las pruebas de anticuerpos anti-proteína ribosomal P son positivas para los niños en 6 al 11%, mientras que en adultos el porcentaje va del 25 al 24% ^{13,23,25}.

Por otro lado, el inicio de LES en edades tempranas se ha asociado con el incremento de alelos de riesgo, lo que podría explicar la gravedad del LESp en comparación con el LESa. Es por esta razón que se ha propuesto una mayor influencia del componente genético en los pacientes con LESp, sugiriendo que en los pacientes con LESa se encuentran probablemente implicados otros factores, tales como los ambientales y los hormonales ⁴.

I.2. Fisiopatología del LES.

El LES es una enfermedad multifactorial, en cuyo desarrollo se han implicado diferentes factores ambientales, genéticos y hormonales ²⁶. Se ha observado que las hormonas esteroideas como la testosterona, el 17β -estradiol, la prolactina, la progesterona y la dehidroepiandrosterona, juegan un papel importante en la regulación del sistema inmune ²⁷⁻²⁹. Lo anterior toma importancia, ya que el 90% de los pacientes con LES son mujeres, por lo que las hormonas pueden ser determinantes en la fisiopatología de esta enfermedad. El estrógeno es una de las hormonas más estudiadas en LES, ya que esta incrementa la gravedad de la enfermedad tanto en seres humanos como en animales ^{30,31}. La acción de esta hormona se ha relacionado con un incremento de los niveles de anticuerpos anti-dsDNA, así como la producción de IgG e IgM por medio de las células mononucleares de sangre periférica (CMNs) ^{30,32}. En mujeres menopáusicas con LES, se ha observado una disminución de las erupciones, así como en mujeres embarazadas, lo que ha sugerido que hormonas como la progesterona tienen un papel protector en estas etapas de desarrollo ^{33,34}. Sin embargo, recientemente se

ha observado un incremento en la incidencia de LES en mujeres menopáusicas, esto puede ser por el efecto de la terapia de sustitución hormonal, explicando el aumento de las erupciones de LES, además de influenciar las complicaciones de esta enfermedad en comparación con mujeres que no recibieron el tratamiento. No obstante, aún no se ha podido establecer con claridad el papel de las hormonas en el desarrollo del LES ^{28,35}.

Dentro de los factores ambientales o exógenos, se ha reportado que las infecciones virales contribuyen al desarrollo del LES mediante diversos mecanismos, en particular a través de la activación de la vía del IFN tipo I (IFN-I). El más descrito es el del virus de Epstein-Barr, debido a la asociación temporal entre la infección por este virus y el LES ³⁶. Al parecer, los antígenos del virus Epstein-Barr contienen regiones homólogas con los auto-antígenos conocidos en LES ³⁷.

Otros factores ambientales que contribuyen al desarrollo de LES son la elevada exposición a la luz ultravioleta (UV) y el tabaquismo. La primera puede provocar exacerbación en el 70% de los pacientes, conocido como fotosensibilidad lúpica, la cual puede ser causada por una respuesta aberrante de los queratinocitos al daño por radiación UV al alterar el ADN, la remoción defectuosa de desechos apoptóticos o una respuesta inmune anormal a estas células, de tal manera que se desarrolla un ambiente antigénico ^{29,38}.

Aún más, existe una correlación entre la producción exacerbada de auto-anticuerpos y la apoptosis, uno de los mecanismos celulares más involucrados en LES, debido al procesamiento incorrecto del sistema inmune para eliminar el debris celular ³⁹. Dentro de los auto-anticuerpos que se unen a las células apoptóticas se encuentran los que reconocen cromatina y fosfolípidos ⁴⁰. En condiciones normales, el mecanismo de apoptosis permite eliminar las clonas auto-reactivas de células B y T, mientras que en individuos con LES, las deficiencias en el sistema inmune contribuyen a la persistencia de estas clonas ⁴¹.

I.3. Genética del LES.

Los factores genéticos también se han asociado al desarrollo de LES. Se ha reportado que el LES es hasta 10 veces más frecuente en individuos con antecedentes familiares de la enfermedad. Por otro lado, se ha descrito un porcentaje de agregación familiar que abarca entre un 10-12%, lo cual indica que existe mayor prevalencia de la enfermedad en familiares de una persona afectada que en la población total. Aún más, la concordancia en gemelos monocigóticos es de 24-58% mientras que en gemelos dicigóticos es 10 veces menor (2-5%)^{42,43}. Aunado a lo anterior, se ha demostrado que los hermanos de pacientes con LES presentan mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, con una relación de riesgo (λ s) de 29 en comparación con la población en general⁴⁴. Mientras los familiares de primer grado de pacientes con LES tienen un 20% más de riesgo de desarrollar LES en comparación con la población sana³.

Dentro de las familias con varios miembros afectados, la incidencia de LES no suele seguir un patrón de herencia mendeliana clásica. En la mayoría de los casos, la susceptibilidad genética del LES sigue siendo variable, con una herencia poligénica con una razón de momios (OR por sus siglas en inglés, Odds Ratio) para la enfermedad entre 1.15 y 2.5⁴⁵.

El análisis genético de enfermedades complejas se basa en estudios de ligamiento y de asociación. Destacan los estudios de asociación de genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés: Genome Wide Association Studies) y de gen candidato, los cuales permiten conocer la participación de genes localizados en loci específicos, implicados en la fisiopatología de una enfermedad²⁶. Los GWAS identifican polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés: Single Nucleotide Polymorphism) que son comunes en el genoma humano y ayudan a determinar cómo están distribuidos en las poblaciones, además de ser marcadores moleculares ideales para estudios de asociación²⁶. Existe una heterogeneidad genética en poblaciones, por lo que se utilizan marcadores genéticos para estratificar por origen étnico, conocidos como marcadores informativos de ancestría

(AIMS, por sus siglas en inglés: Ancestry Informative Markers) que son SNPs específicos de cada población continental ^{46, 47}.

1.3.1. Genes asociado a LES

Debido a su amplia distribución, los SNPs pueden localizarse en cualquier parte de la estructura de los genes y el genoma. De acuerdo a su localización, pueden clasificarse de forma general como SNPs codificantes (cSNP, por sus siglas en inglés: coding SNP) y SNPs no codificantes (ncSNP, por sus siglas en inglés: non-coding SNP) ⁴⁸.

Los cSNP se encuentran en los exones y pueden tener un efecto a nivel de la traducción si conlleva al cambio de un aminoácido por otro. Por esta razón se subdividen en sinónimos (si el cambio de nucleótido no modifica al aminoácido) y no sinónimos (si el cambio de nucleótido involucra un aminoácido) ⁴⁸. Por otro lado, los ncSNP, se encuentran en las regiones intergénicas, participan en la regulación biológica o funcional, como el caso de sitios de unión a factores de transcripción ⁴⁹. Se han identificado en regiones regulatorias, en promotores y enhancers; de esta manera, pueden afectar los niveles de expresión génica ⁵⁰.

Otro tipo de SNPs, son los que pueden alterar la traducción de los RNA mensajeros (mRNA), conocidos como SNP RNA estructurales (srSNP, por sus siglas en inglés: structural RNA SNP). Se encuentran tanto en los mRNA primarios como en los secundarios, esto incluye a las regiones no traducidas (5' y 3'-UTR, por sus siglas en inglés: Untranslated Region), regiones intrónicas y codificantes ⁴⁸. De esta manera pueden llegar a afectar a la estructura y función de los ARNs, incluyendo el corte y empalme, la regulación de la traducción, la funcionalidad de las proteínas (sin alterar necesariamente su estructura), la estabilidad de los mRNAs y la poliadenilación de los mismos ⁴⁸.

La variabilidad genética se ha relacionado principalmente con los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), y estos con la susceptibilidad a padecer diversas

enfermedades ⁵¹. En el caso del LES, se han identificado variantes asociadas por medio de GWAS y estudios de gen candidato, los cuales han sido validados en cohortes independientes de pacientes para clasificarlos como asociados a LES ⁵².

Los GWAS han revelado la asociación de al menos 60 loci de riesgo asociados a LES, lo cual puede explicar el 15% de heredabilidad, aunque es posible que falte un número mayor de genes por ser asociados. Resulta interesante que la mayoría de los genes que se han asociado a LES participan en la respuesta inmune, tanto innata como adquirida. Estos genes se encuentran principalmente involucrados en tres tipos de procesos biológicos: a) procesamiento del complejo inmune, b) en la vía del IFN-I y de los receptores tipo Toll (TLR por sus siglas en inglés Toll-like receptor), y c) en la transducción de señales en los linfocitos ⁵³. Algunos de estos genes están representados en la figura 1.

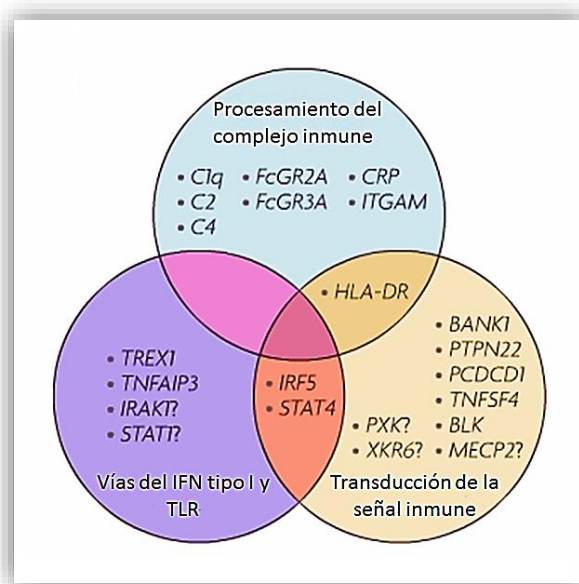


Figura 1. Genes asociados a LES. Los genes asociados a LES se encuentran implicados en el procesamiento del complejo inmune, principalmente los que participan en el complemento y en la apoptosis. Otros genes asociados participan en la vía del IFN-I, dentro de estos los TLRs que participan en la cascada de señalización para la producción de citocinas pro-inflamatorias. La función de los genes involucrados en la transducción de la señal inmune es la activación de los linfocitos B y T, lo que lleva a la permanencia de clonas autoreactivas. Tomada y modificada de ⁵³.

El primer proceso biológico involucra a los defectos en la apoptosis, así como la remoción de cromatina, complejos inmunes y en la presentación de los linfocitos, los cuales han sido involucrados en el desarrollo de LES. Por mencionar algunos genes asociados dentro de esta clasificación se agrupan proteínas del complemento (C1q, C2, C4), la integrina alfa M (ITGAM) y el fragmento Fc del receptor de IgM clase II (FcGR2A) ⁵³.

Por otra parte, los interferones han sido caracterizados en la patogenia del LES. En específico, la participación de la vía del IFN-I reside en el reconocimiento de ácidos nucleicos propios mediante la cascada de señalización iniciada por los TLRs. La participación de la transducción de la señal inmune en los linfocitos B y T en el desarrollo de LES radica en la activación de los receptores específicos de cada tipo celular (BCR y TCR, respectivamente), lo cual desencadena la señalización para la producción de auto-anticuerpos o la sobrevida de las clonas autoreactivas ^{52, 53}. Como ejemplos de este proceso, se encuentran los genes de la proteína tirosina fosfatasa no receptora tipo 22 (PTPN22), proteína acarreadora con un repetido ankirina de células B (BANK1), el miembro de la superfamilia del factor de necrosis tumoral 4 (TNFSF4) y el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B (NF-kB).

Aunado a la asociación genética, se toman en cuenta las manifestaciones clínicas de los pacientes, de manera tal que se pueden conocer aquellos genes asociados a manifestaciones específicas de la enfermedad como el daño del tejido renal ⁵².

A pesar de la fuerte evidencia genética, se puede aludir a la contribución de los genes como un factor importante, pero no lo suficiente para causar la enfermedad ³⁶. Otro factor relevante en LES, es la regulación epigenética. En la patogenia de esta enfermedad, se ha observado que los pacientes con LES presentan un estado de hipometilación, lo cual correlaciona con la expresión diferencial de ciertos genes ⁵⁴.

Por lo general, los estudios de asociación son realizados en pacientes adultos, por lo que aún falta por explorar estas asociaciones en pacientes con LESp. En lo que

respecta a la población mexicana, se han llevado a cabo este tipo de estudios de asociación en pacientes con LESp.

I.3.1.1. Genes asociados a LESp en población mexicana

Algunos de los genes estudiados en esta población han mostrado asociación a LESp, algunos ejemplos son presentados en la tabla 3.

Tabla 3. Polimorfismos estudiados y replicados en LESp

Gen	SNP	Alelo asociado	OR (IC 95%)	Referencia
PTPN22	1858C/T	1858T	3.19 (1.35-7.52)	55
PDCD1	PD1.3G/A	PD1.3 ^a	2.73 (1.35-5.56)	56
IRF5	rs2004640 rs2070197 rs10954213	T C A	10.46 (7.71–13.21)	57
STAT1- STAT4	rs1467199 STAT1	G	1.46 (1.09-1.97)	58
ITGAM	rs1143679	A	1.83 (1.69-1.98)	59
TNF-α	-308G/A	-308 ^a	2.77 (1.96-3.93)	60

Cabe señalar que la mayoría de los genes mostrados en la tabla 3 participan en la inmunidad innata. Dentro de éstos, destaca el factor regulador de interferón 5 (IRF5, por sus siglas en inglés: Interferon Regulator Factor 5), en el que se localiza un haplotipo de riesgo conformado por los SNPs rs2004640, rs2070197 y rs10954213,

además de presentar una mayor frecuencia alélica en individuos mestizos e indígenas en comparación con población europea, así como una fuerte asociación a LES comparado con controles sanos ⁵⁷.

Gran parte de los genes involucrados en la inmunidad innata están relacionados en la vía del IFN-I ⁴, y esto aunado a que la mayoría de los pacientes con LES presentan niveles séricos elevados de esta citocina, conlleva a estudiar si existe asociación con esta enfermedad.

I.4. Vía del interferón tipo I.

Los interferones (IFNs) son citocinas ampliamente expresadas, que actúan principalmente en la defensa ante infecciones virales ⁶¹. A la fecha, se han descrito tres familias de IFN: a) la familia del IFN tipo I (IFN-I), la cual comprende un gran número de genes que codifican para 13 subtipos homólogos parciales de IFN α en humanos e IFN β entre otros; b) el IFN tipo II (IFN-II) está representado por el IFN γ , producido principalmente por linfocitos T y las células natural killer (NK); c) la familia del IFN tipo III (IFN-III), constituido por IFN λ 1, IFN λ 2 e IFN λ 3 ⁶¹.

El IFN α y el IFN β son citocinas secretadas por células infectadas, de manera tal que se produce un ambiente antimicrobiano en la célula infectada y en las células aledañas, evitando así un esparcimiento de los agentes infecciosos, en especial los virales. Estas moléculas también modulan la respuesta inmune al promover la presentación de antígenos, así como la función de las células NK, mientras restringen las vías proinflamatorias y la producción de citocinas. Estas citocinas también son importantes en la respuesta inmune adaptativa, ya que promueven el desarrollo de la alta afinidad a la respuesta a antígenos y para generar memoria en las clonas de los linfocitos T y B, respectivamente (Figura 2). ⁶¹.

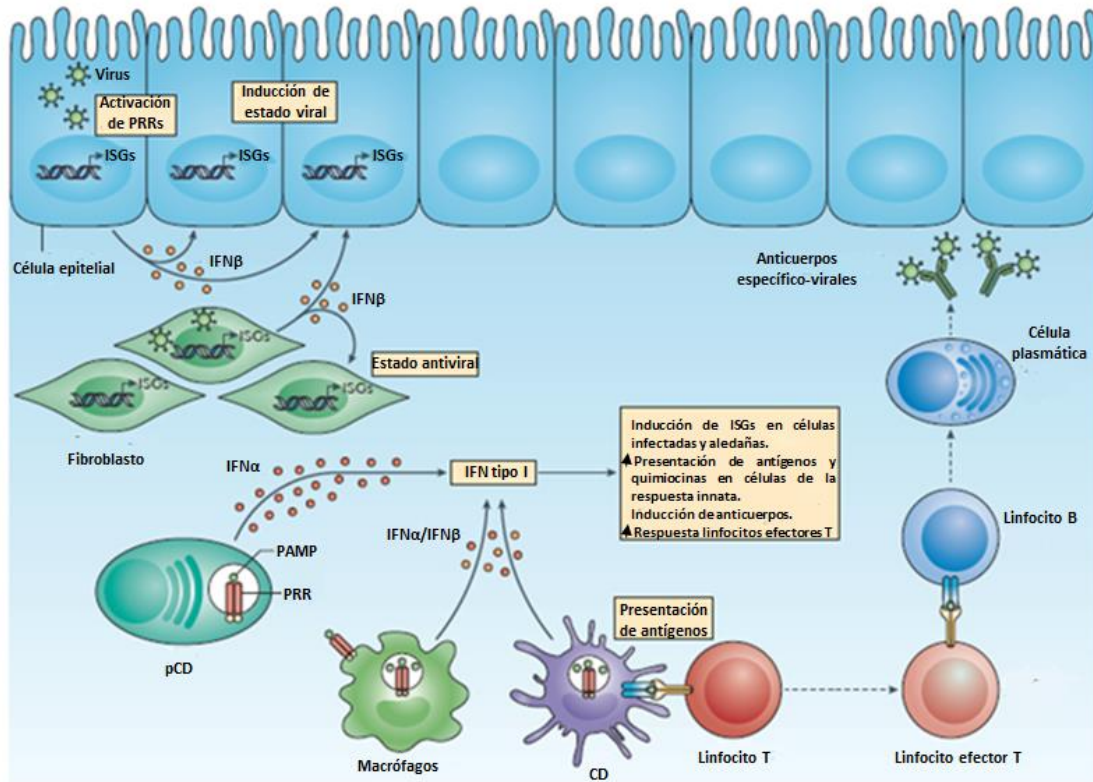


Figura 2. Regulación de la inmunidad innata y adaptativa mediada por interferón tipo I (IFN-I). Las células infectadas por patógenos comienzan la producción de IFN-I, principalmente sintetizado por macrófagos, células dendríticas (CD). En la detección de los agentes patógenos se involucra a los patrones de receptores de reconocimiento (PRRs), encontrados en la membrana plasmática, en los endosomas y el citosol. Las células no inmunes como los fibroblastos, producen IFNβ, mientras que las células dendríticas plasmocitoides (pCDs), sintetizan grandes cantidades de IFNα. En las células infectadas y aledañas, la inducción de IFN-I favorece la expresión de genes estimulados de IFN (ISGs), que se encargan de delimitar la infección y como consecuencia que se propague. Por otro lado, las células de la inmunidad innata, incrementan la presentación de antígenos y síntesis de citosinas y quimiocinas. Mientras que en la inmunidad adaptativa, los linfocitos B aumentan la producción de anticuerpos y amplifican la función efectora de los linfocitos T. Tomada y modificada de ⁶².

El IFN-I es producido por casi cualquier tipo celular en respuesta a la estimulación de receptores, sin embargo, existen diferencias entre IFNα/β ⁶¹. El primero es elaborado principalmente por las células dendríticas plasmocitoides (pCDs), mientras que el segundo por cualquier célula hematopoiética, entre las que se encuentran los monocitos como los macrófagos y células dendríticas (CDs) ⁶¹.

La mayoría de las células comienzan la síntesis del IFN en respuesta a la estimulación de los patrones de receptores de reconocimiento (PRRs, por sus

siglas en inglés: Pattern Receptor Recognition) ⁶¹. Estos pueden localizarse tanto en la superficie de la membrana celular, en el citosol y compartimentos endosómicos. Reconocen ácidos nucleicos propios, así como un número limitado de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés: Pathogen Associated Molecular Patterns) que no sean ácidos nucleicos. Debido a esto, se han descrito diversas vías de producción de IFN-I ⁶².

Dentro de estas, destaca la vía denominada como canónica, la cual está relacionada con la unión de IFN α / β al receptor transmembranal heterodimérico nombrado receptor de IFN α (IFNAR, por sus siglas en inglés: IFN α receptor), el cual activa a su vez al receptor asociado a la tirosina cinasa Janus quinasa 1 (JAK1) y tirosin cinasa 2 (TYK2). Esta vía lleva finalmente a la fosforilación de factores de transcripción latentes en el citoplasma, los transductores de señal y activadores de transcripción (STAT, por sus siglas en inglés: Signal Transducer and Activator of Transcription) 1 y 2, respectivamente ⁶¹. El heterodímero STAT1/STAT2 se trasloca al núcleo en donde se asocia con la proteína de unión al ADN, IRF-9, también llamado factor de genes estimulados de IFN 3 [ISGF3, por sus siglas en inglés: IFN-stimulated gene (ISG) factor 3] ^{63, 64}. Estos complejos se traslocan al núcleo y se unen a los elementos de respuesta estimulada a IFN (ISREs, por sus siglas en inglés: IFN-stimulated response elements) en el ADN para iniciar la transcripción de genes inducidos por IFN-I ⁶³.

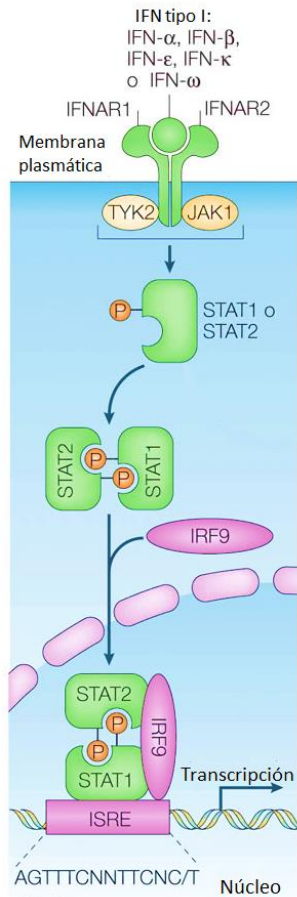


Figura 3. Vía canónica de síntesis del interferón tipo I (IFN-I). Todos los tipos de IFN-I se unen al receptor de IFN-I compuesto por las subunidades IFNAR1 e IFNAR2. Este receptor está asociado con las cinasas activadas Janus (JAK), las tirocin cinasas 2 (TYK) y JAK1. La activación de las JAKs asociadas a este receptor resulta en la fosforilación de STAT2 y STAT1, lo cual desencadena la formación del complejo STAT1-STAT2-IRF9 que es conocido como factor de genes estimulados de IFN 3 (ISGF3). Estos complejos se translocan al núcleo y se unen a los elementos de respuesta estimulada a IFN (ISREs), lo que lleva finalmente al inicio de la transcripción de genes inducidos por IFN-I. Tomado y modificado de ⁶⁴.

Adicional a la vía canónica, la activación de los genes de IFN-I puede llevarse a cabo mediante la activación de los receptores TLRs. Este proceso comienza con el reconocimiento de patógenos tales como virus, bacterias o ácidos nucleicos, por receptores propios de la inmunidad innata, como PRRs, receptores inducibles por ácido retinoico tipo 1 (RLR) y los TLRs.

El TLR4, localizado en la superficie celular, reconoce a los lipopolisacáridos de las bacterias, y es considerado uno de los principales inductores de IFN-I, a través del adaptador de proteína inductora de IFN con dominio TIR (TRIF, por sus siglas en inglés: TIR-domain-containing adaptor protein inducing IFN). En los compartimentos endosómicos, los TLRs 3, 7 y 9, responden al ARN de doble cadena (dsRNA), ARN de cadena sencilla (ssRNA) y dsDNA, respectivamente. Esto lleva a la convergencia de señales de estos receptores en factores de transcripción específicos, como el

caso de los factores reguladores independientes de IFN (IRF, por sus siglas en inglés: Independent IFN-Regulatory Factors), que son los encargados de activar la transcripción de los genes de IFN α/β . En la mayoría de los casos, IRF3 y 7 son fundamentales para efectuar este proceso, sin embargo, otros pueden participar, tal es el caso de IRF1, 5 y 8. Para el TLR4, se requiere la activación de la cinasa de unión a TANK 1 (TBK1, por sus siglas en inglés: TANK-Binding Kinase 1), el cual activa a IRF3 mediante una fosforilación para traslocarse al núcleo y comenzar con la transcripción de genes de IFN-I (Figura 4a). Por otro lado, TLR7 y 9, se encuentran expresados en su mayoría en las células pCD y transducen la señal mediante una cascada de señalización que involucra el factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88, por sus siglas en inglés: Myeloid Differentiation primary-response gene 88), un adaptador que recluta al factor asociado al receptor de factor de necrosis tumoral (TRAF6, por sus siglas en inglés: TNF Receptor Associated Factor 6) y el receptor de interleucina tipo cinasa (IRAK, por sus siglas en inglés: Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 1) 1 y 4. Después se lleva a cabo la fosforilación de IRF3, 5 y 7, permitiendo su traslocación al núcleo para la transcripción de los genes de IFN-I^{63,65} (Figura 4b).

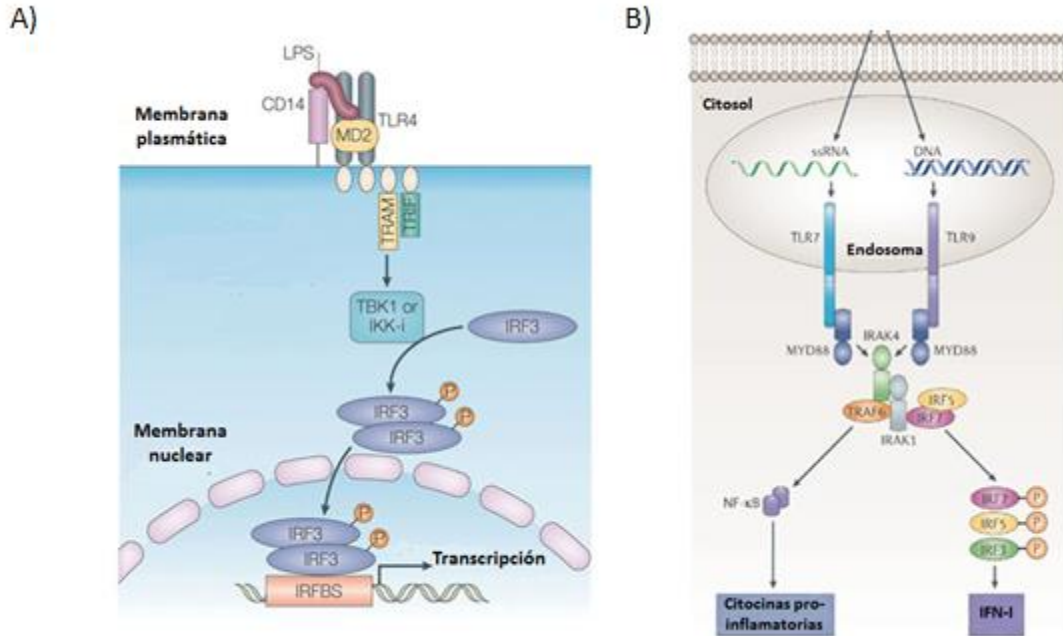


Figura 4. Señalización de la vía del interferón tipo I (IFN-I) mediada por receptores TLR. A) La activación de TLR4 mediada por lipopolisacáridos (LPS) desencadena la activación del factor de diferenciación mieloide 88 (MyD88) y el factor regulador independiente de IFN 3 (IRF3), desde la membrana plasmática a través de las proteínas adaptadoras inductoras de IFN con dominio TIR (TRIF) y la molécula adaptadora relacionada a TRIF (TRAM). Esto permite la activación de la cinasa de unión a TANK 1 (TBK1), la cual a su vez fosforila a IRF3 que dimeriza y se traslocarse al núcleo y así comienza la transcripción de genes de IFN-I. Tomada y modificada de ⁶⁶. **B)** La cascada de señalización comienza cuando los receptores endosomales TLR7 y TLR9 detectan ssRNA y ADN, lo que desencadena la activación de MyD88 factor asociado al receptor de factor de necrosis tumoral (TRAF6) y el receptor de interleucina tipo cinasa 1 y 4 (IRAK1 Y 4). En conjunto se lleva a cabo la fosforilación de IRF3, 5 y 7, permitiendo su traslocación al núcleo para la transcripción de los genes de IFN-I. Tomada y modifica de ⁶⁷.

En la vía de IFN-I pueden ocurrir variaciones que lleven a una mala señalización, conduciendo así a una serie de factores que afectan varios procesos celulares. Por lo general, se ha pensado que los IFN-I tienen una participación en las patogénesis de enfermedades autoinmunes al favorecer la presentación de antígenos, la respuesta de los linfocitos y producción de moléculas inflamatorias (Figura 5).

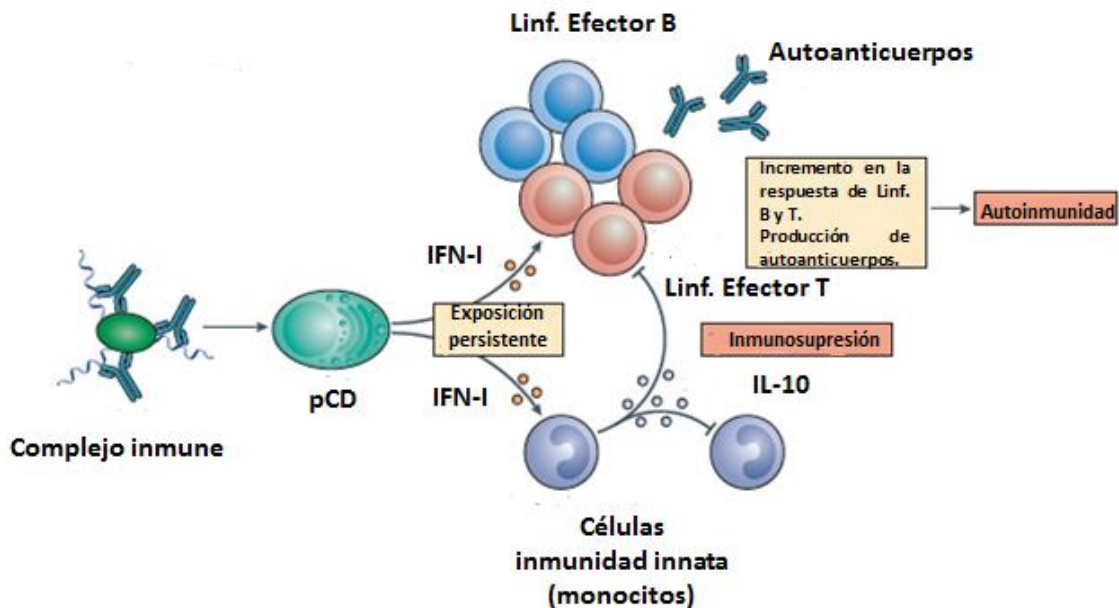


Figura 5. Exposición persistente de IFN-I en enfermedades autoinmunes. En enfermedades autoinmunes, la producción de IFN-I es prolongada, en parte por la desregulación o la estimulación continua de las células presentadoras de antígenos, entre las que se encuentran las pCDs, mediante complejos inmunes. Lo anterior lleva a un incremento de la función de los linfocitos T y B en su función efectora, desencadenando la producción de autoanticuerpos y como consecuencia final una posible enfermedad autoinmune. La estimulación crónica de complejos inmunes, también incrementa la producción de IL-10, citocina que suprime la actividad de la inmunidad innata y adaptativa. Aunque por lo general se relaciona el IFN-I con enfermedades como LES, mientras que el papel supresor de IL-10 podría contribuir a la susceptibilidad de infecciones en LES. Tomada y modificada de ⁶².

Durante la última década se ha observado que en pacientes con LES, el IFN- α es una de las principales citocinas que se encuentran en niveles séricos elevados, especialmente en pacientes pediátricos ⁷⁰. Se ha observado que la producción de IFN es persistente y de forma crónica, lo cual provoca un estado de inflamación permanente y daño a tejidos. Además, la elaboración anormal de varias proteínas implicadas en la vía del IFN correlaciona con el incremento de estas en pacientes con LES, además de corroborarse en estudios genéticos en los que se han encontrado variantes genéticas en genes de la vía, como el caso de *IRAK1*, proteína importante en esta vía de señalización ⁶⁸.

I.4.1. *IRAK1* y su estudio en LES

Una de las proteínas que participa en la vía de IFN-I es la cinasa-1 asociada al receptor de interleucina-1 (*IRAK1*, por sus siglas en inglés: Interleucine Receptor Associated kinase 1), la cual se localiza en la región cromosómica Xq28 (Figura 6).

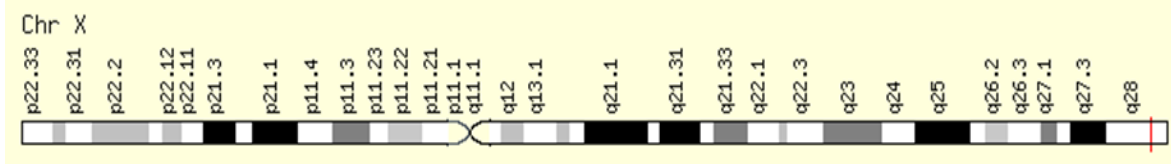


Figura 6. Mapa cromosómico, en donde se observa la localización del gen *IRAK1* en el cromosoma X. Tomada de⁶⁹

IRAK1 es una de las dos cinasas treonina/serina putativas asociadas al receptor de interleucina-1 (IL1R, por sus siglas en inglés: Interleucine 1 Receptor). Este gen participa en la regulación positiva inducida por interleucina 1 (IL-1) por el factor de transcripción NF- κ B.⁶⁸

IRAK1 participa en tres funciones de la respuesta inmune, las cuales se han observado afectadas en LES. Primero, *IRAK1* participa en la inducción de IFN- α e IFN- γ , cuya producción aumenta en pacientes con LES⁷⁰. También es un regulador en la vía de NF- κ B, el cual tiene una actividad anormal en los linfocitos T de pacientes con LES⁷¹, y por último, juega un papel importante en la activación de TLRs en la patogénesis, incluyendo la activación antinuclear de células B y la subsecuente formación de complejos inmunes⁷².

En diversos estudios se ha asociado al gen *IRAK1* con la susceptibilidad a LES. En estudios de desequilibrio de transmisión (TDT, por sus siglas en inglés: Transmission Disequilibrium Test) y análisis de corrección de multiple pruebas, se ha observado una asociación significativa entre *IRAK1* y LESp⁷³. En otro estudio realizado por Jacob y colaboradores, se encontraron algunos SNPs localizados en *IRAK1*, de los cuales los SNPs rs2239673, rs763737 y rs7061789, están asociados a LES, lo cual sugiere una participación importante de *IRAK1* en esta enfermedad

⁷⁴. Otros SNPs que se han asociado a LES son el rs3027907 y el rs5945174. Cabe señalar que estos cinco polimorfismos se encuentran en desequilibrio de ligamiento (LD, por sus siglas en inglés: Linkage Disequilibrium) que se extiende desde el intrón 10 al 13 del gen de *IRAK1* ⁷⁴.

I.4.1.1. El polimorfismo rs3027898

El SNP rs3027898 [A/C] se localiza en el extremo 3'UTR del gen de *IRAK1* (Figura 7).

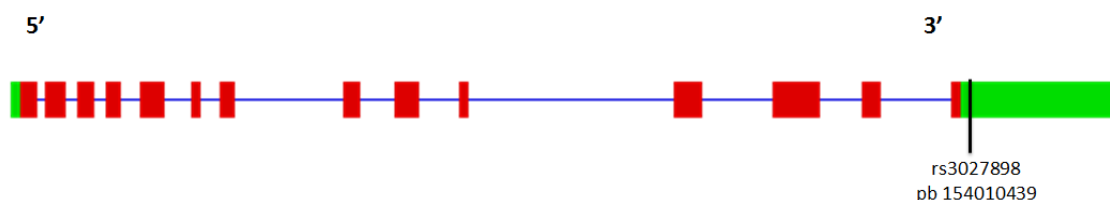


Figura 7. Representación de la localización genómica del SNP rs3027898. Mapa de localización de rs3027898 dentro del gen de *IRAK1* (región 3'UTR). Los cuadros rojos se representan los 14 exones que conforman al gen, las líneas azules a los intrones, mientras que los rectángulos de color verde corresponden a las regiones 5' y 3UTR según el contexto de la dirección.

El polimorfismo rs3027898 se ha asociado a diversos padecimientos, como la artritis psoriásica en población griega ($P=0.007$ y $OR: 0.169$) ⁷⁵; en población china, se encontró que el genotipo de riesgo AA está asociado a riesgo de artritis reumatoide (AR) ($P=0.017$ y $OR=1.91$). ⁷⁶ Al comparar los alelos A y C en AR se encontró asociación del primero con esta enfermedad ($P=0.017$) ⁷⁷. Por otro lado, un meta análisis en AR reportó asociación con el genotipo CC ($P= 0.041$ y $OR = 1.123$) ⁷⁸. En un estudio realizado en tuberculosis pulmonar se mostró que el genotipo AA se presenta con un riesgo incrementado a este padecimiento tanto en hombres como en mujeres ($P= 0.0033$ y $OR=1.50$), sin embargo, al realizar una corrección por género el riesgo se ve incrementado solamente en mujeres ($P=0.0468$ y $OR=2.39$) ⁷⁹. En lo que respecta a LES, hasta ahora se ha estudiado en la población china,

en la que se encontró asociación del alelo mayor C con LES (OR=1.438 y P<0.001), y una asociación significativa con el genotipo CC (OR= 2.140 y P= 0.005⁸⁰). En la tabala 4 se muestra un breve resumen de estos estudios.

Tabla 4. Resumen de los estudios de asociación del SNP rs3027898 con diferentes enfermedades.

POBLACION	ENFERMEDAD	ALELO DE RIESGO	ASOCIACION	OR	P
China	LES	C	LES	1.438	0.001
China	Tuberculosis pulmonar	A	Tuberculosis pulmonar	1.50	0.0033
China	Artritis reumatoide	A	Riesgo de desarrollar artritis reumatoide	1.91	0.017
Griega	Artritis psoriasisica	A	Susceptibilidad a artritis psoriasisica.	0.169	0.007

Por lo anterior, el estudio de otros SNPs localizados en *IRAK1*, como el rs3027898, en la población mexicana con LESp puede brindar mayor conocimiento de cómo las variantes genéticas de éste influyen en la susceptibilidad a LES.

II Justificación

- En el LES una de las vías más afectada es la vía del IFN-I, en la cual *IRAK1* juega un papel importante. Por ello estudiar variantes genéticas localizadas en este gen, tales como el rs3027898 puede contribuir a dilucidar más acerca del desarrollo de LES en poblaciones susceptibles a esta enfermedad como la mexicana.

III Hipótesis

- El SNP rs3027898 localizado en la región 3'UTR de *IRAK1*, se encuentran asociado a LESp en la población mexicana.

IV Objetivos

IV.1. Objetivo General

Evaluar si el polimorfismo rs3027898, localizado en el gen *IRAK1*, se encuentra asociado a LESp en la población mexicana.

IV.2. Objetivos Particulares

- Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs3027898 en la población mexicana y compararlas con las reportadas para otras poblaciones continentales.
- Realizar un estudio de asociación caso-control del polimorfismo rs3027898 con LESP y NL.
- Evaluar mediante un estudio de TDT si existe una sobretransmisión de alelos del rs3027898 de padres a hijos.

V Materiales y Métodos

- Población de estudio

En el presente estudio se incluyeron 324 pacientes con LESP, provenientes del Centro Médico Nacional Siglo XXI y del Instituto Nacional de Pediatría. Cada paciente fue evaluado por un médico reumatólogo o inmunólogo quién llenó la hoja de captación de datos, una vez obtenido el consentimiento informado de los participantes. De igual manera, se incluyeron muestras de familiares de algunos pacientes (padre y madre) para completar tríos. También se incluyeron 424 individuos como controles, los cuales fueron mayores de 18 años y no refirieron alguna enfermedad autoinmune o crónica y de los cuales se contó también con la carta consentimiento informado. El estudio contó con la autorización de los comités de ética, bioseguridad e investigación de las instituciones participantes.

- Criterios de inclusión

Fueron admitidos pacientes mexicanos con LESP diagnosticados antes de los 16 años de edad, que cumplieran con al menos 4 de los 11 criterios de la clasificación establecida por la ACR, y cuyos tutores aceptaran firmar la carta de consentimiento informado o se contara con el asentimiento del paciente. Como controles se incluyeron individuos sanos, sin antecedentes de enfermedades autoinmunes (mediante la aplicación de un cuestionario). Tanto para los casos como para los

controles, se tomó como criterio de inclusión que las dos últimas generaciones hubieran nacido en México y que no refirieran antecedentes extranjeros.

- Criterios de exclusión

Pacientes con antecedentes de cualquier otra enfermedad crónica concomitante y que recibieran alguna transfusión en los últimos tres meses. También si los participantes decidieran salir del estudio.

- Extracción de ADN.

Se llevó a cabo a partir de 5 mL de sangre periférica utilizando el estuche comercial Puregene Blood Core Kit C (Qiagen). Primero, se separó el plasma mediante centrifugación a 3500 rpm, con la finalidad de obtener el paquete celular. Una vez hecho esto, el paquete celular se transfirió a un tubo de 15 mL, se agregó la solución de lisis RBC (por sus siglas en inglés: Red Blood Cell) y así eliminar la mayor cantidad posible de eritrocitos, haciendo los lavados pertinentes para obtener un paquete celular lo más blanco posible.

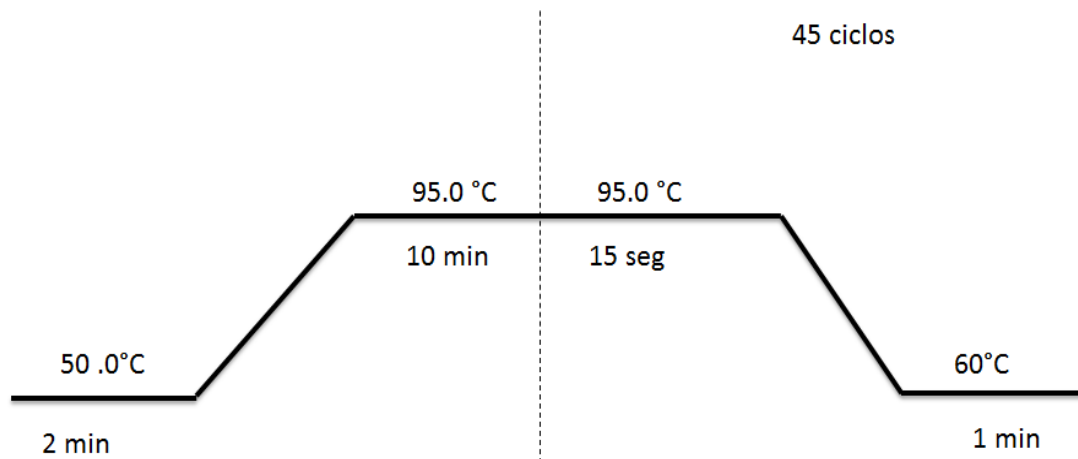
Después se agregaron 3 mL de solución de lisis celular WLCB (por sus siglas en inglés: White Cell Lysis Buffer), agitando de manera vigorosa en el vortex. Posteriormente se agregó 1 mL de solución de precipitación de proteínas PPS (por sus siglas en inglés: Precipitation Proteins Solution), mezclando con el vortex por 30 segundos. Se centrifugó a 3500 rpm (4°C) para recuperar el sobrenadante que contiene el ADN, el cual se transfirió a un tubo de 15 mL, para agregar isopropanol al 100% en una relación 1:1, agitando por inmersión hasta que se observó el ADN precipitado.

Se centrifugó a 3500 rpms durante 15 minutos para obtener el botón del ADN, el cual se lavó con etanol al 70%. Se realizó una centrifugación a 3500 rpm durante 5 minutos y se dejó secar el ADN a temperatura ambiente, y posteriormente se resuspendió en 300 µl de buffer TE. Finalmente, se cuantificó la concentración de

ADN en el equipo Nanodrop (ND-1000). Se consideraron valores de absorbancia 260/280 dentro de 1.7 y 1.9 nm.

- Discriminación alélica por sonda TaqMan.

El ensayo de discriminación alélica se realizó mediante la metodología de sonda TaqMan para genotipificación del SNP rs3027898 (Applied Biosystems). Dicho procedimiento es llevado a cabo mediante la actividad de la 5' exonucleasa de la Taq Polimerasa sobre las sondas específicas para cada alelo, las cuales están marcadas con un fluoróforo específico para cada uno de los alelos de interés. Para una reacción se utilizaron: 25ng de ADN de cada muestra, TaqMan Universal PCR Master Mix (2X) y la sonda correspondiente SNP Genotyping Assay (40x) (C__15765198_10). Las reacciones se llevaron a cabo en el termociclador ABI PRISM 7900HT y VIIA 7 (Applied Biosystems), utilizando el siguiente termociclaje:



- Análisis estadístico

Las frecuencias alélicas y genotípicas se compararon mediante el estadístico χ^2 con las reportadas para otras poblaciones en la base de datos de 1000 genomas. Para los análisis de asociación se utilizó la plataforma g-PLINK⁸¹. Los estudios de caso-control se llevaron a cabo mediante una regresión lineal logística con un intervalo de confianza (IC) del 95%. Se realizaron correcciones por Bonferroni, por género y ancestría, utilizando AIMS descritos previamente para la población mexicana⁴⁶. Además, se utilizó el programa Haploview para realizar el estudio de TDT⁸². Se consideraron los datos significativos con valores de $P < 0.05$.

VI. Resultados

VI.1. Comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs3027898 en población mexicana y poblaciones continentales.

La genotipificación del SNP rs3027898 se llevó a cabo en 324 pacientes con LESp y 424 controles, mediante el ensayo de discriminación alélica, teniendo así un total de 748 individuos genotipificados.

Se realizó la comparación de las frecuencias alélicas y genotípicas obtenidas en los controles con los datos reportados en la base de datos de 1000 genomas. La comparación se realizó con las frecuencias de la población mexicana residente en Los Ángeles, California (MXL), asiáticos de la población Han de China (HCB), africanos Yoruba de Idaban, África (YRI) y los individuos con ancestría europea del norte y este de Utha, USA (CEU), los cuales se describen en la tabla 5, así como su distribución geográfica en la figura 8.

Tabla 5. Poblaciones de comparación

POBLACIONES BASE DE DATOS 1000 GENOMAS ⁸³	
POBLACION	PROCEDENCIA
1) MXL	Mexicanos residentes en Los Ángeles, California.
2) HCB	Asiáticos de la población Han de Beijing China
3) YRI	Yorubas de Ibadán, Nigeria
4) CEU	Residentes de Utah con ascendencia europea septentrional y occidental

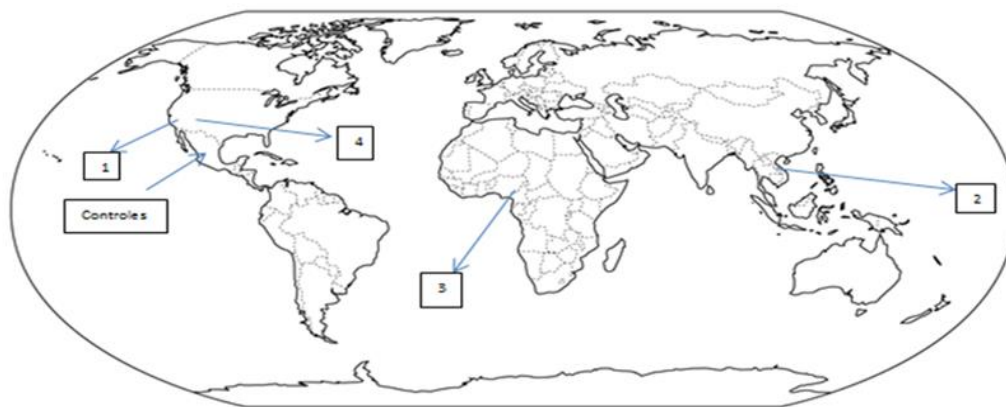


Figura 8. Distribución geográfica de las poblaciones comparadas con la del presente estudio. 1) MXL: Mexicanos residentes en Los Angeles, California; 2) HCB: Asiáticos de la población Han de Beijing China; 3) YRI: Yorubas de Idaban, Nigeria y 4) CEU: Residentes de Utah con ascendencia europea septentrional y occidental.

Las frecuencias alélicas (C y A) fueron calculadas para todos los controles, así como las frecuencias genotípicas (CC, CA y AA). En la población mexicana se observó que el alelo menor A se encuentra en una frecuencia del 39%, mientras que el alelo mayor C en un 61%. En cuanto a los genotipos, se observó que los homocigotos

CC se encuentran en un porcentaje del 48%, mientras que los homocigotos TT y heterocigots CT en un 26% (Tabla 6). La distribución alélica se encontró en equilibrio Hardy-Weinberg.

Tabla 6. Frecuencias alélicas y genotípicas del SNP rs3027898 en controles y su comparación con distintas poblaciones continentales.

Frecuencias alélicas y genotípicas del rs3027898					
Frecuencias (%)					
	Controles	MXL**	HCB**	YRI**	CEU**
Alelos					
C	61	45	84	48	22
A	39	55	16	52	78
Genotipos					
C C	48	22	79	36	19
C A	26	34	16	24	13
A A	26	44	5	40	68

MXL: individuos con ancestría mexicana de Los Angeles y California, USA. **YRI:** individuos africanos Yoruba de Ibadan, Nigeria. **HCB:** individuos asiáticos de la población Han de Beijing, China. **CEU:** individuos con ancestría europea del norte y este de Utha, USA. Las frecuencias alélicas y genotípicas de las poblaciones continentales fueron obtenidas de la base de datos 1000 genomes⁸³. ** P<0.001.

Comparando las frecuencias alélicas y genotípicas mediante el estadístico Chi² con las poblaciones continentales de la base de datos 1000 genomas, se encontró que la población mexicana presenta las menores frecuencias del alelo A, y que solamente por debajo de esta se ubica la población asiática (16%). Al comparar los genotipos, se observa que la frecuencia de los homocigotos (AA) en la población control del presente estudio se disminuída en comparación con la reportada para los MXL y con los CEU.

VI.2. Comparación de frecuencias alélicas y genotípicas del rs3027898 en pacientes con LES.

Al comparar las frecuencias alélicas y genotípicas entre casos y controles, se observó en los pacientes con LES el alelo menor A es menos frecuente (30%) en comparación con el alelo mayor C (70%), esto mismo sucede en los controles, ya que la frecuencia para el alelo C es del 61% y de 39% para el alelo A. En las frecuencias genotípicas no se observaron diferencias entre los casos y los controles, a excepción de los homocigotos AA que en los casos se encuentra ligeramente más frecuente (Tabla 7).

Tabla 7. Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs3027898 en LES

	Frecuencias (%)		Frecuencias (%)	
	MEX		CHN	
	Casos	Controles	Casos	Controles
Alelo	N: 324	N:424	N:661	N:663
C	70	61	84	79
A	30	39	16	21
Genotipo				
C C	51	48	72	64
C A	39	26	25	30
A A	10	26	3	6

MEX: población mexicana mestiza en este estudio. **CHN:** población proveniente de Han China en Beijing⁸⁰.

Después, se compararon las frecuencias obtenidas con datos previamente publicados. En la Tabla 7 se muestran las frecuencias obtenidas en individuos provenientes de Han, China, en la cual se observa que las frecuencias del alelo menor A son menores a las reportadas para la población mexicana, tanto en casos como en cotroles. Se puede observar en la población mexicana como en la china que el porcentaje del alelo menor A es más frecuente en los casos con respecto a

los controles. En cuanto a las frecuencias de los genotipos, el genotipo AA es más frecuente en la población mexicana.

VI.3. Análisis de asociación caso-control con LESP.

Se realizó el estudio de asociación caso-control corrigiendo por género. Debido a que la población mexicana muestra una heterogeneidad poblacional, se llevo a cabo una corrección por ancestría, utilizando AIMS previamente determinados, a partir de un microrarreglo. En todos los casos se tomó un IC del 95%, además de considerar como valores significativos a todos aquellos con una $P < 0.05$. En la tabla 8 se muestran los resultados.

Tabla 8. Caso-Control para el rs3027898

LESp	OR (IC 95%)	P*
Sin corrección	1.43 (1.141-1.791)	0.001857
Corrección por ancestría	1.639 (1.289-2.083)	5.411×10^{-05}
Corrección por género	0.5774 (0.3911-0.8526)	0.005745

P: valor de p de la regresión logística OR: Odds Ratio/Razón de Momios IC: Intervalo de confianza
*Corregida por Bonferroni. Se muestran los valores obtenidos de P y OR (IC 95%) para los análisis: sin corrección y con corrección por ancestría al utilizar AIMS, además de una corrección por género.

Se encontró asociación de este polimorfismo con LESP como alelo de riesgo con una P significativa de 0.001857, y al realizar la corrección por ancestría el valor de P fue más significativo (5.411×10^{-05}). Además, la corrección por género muestra que se encuentra asociado al género femenino como alelo de protección con una P de 0.005745.

VI.1. Análisis de asociación con NL.

Debido a que la NL es la afección más frecuente en LESp y que esta se asocia con la gravedad de la enfermedad, se realizó un estudio de asociación con NL. De la misma forma que en el análisis anterior, se hizo una corrección por ancestría y por género. No se encontró asociación de este SNP con NL (Tabla 9).

Tabla 9. Caso-Control para el rs3027898 con NL

LESp	OR (IC 95%)	P*
Sin corrección	1.183 (0.774-1.808)	0.4378
Corrección por ancestría	1.262 (0.7942-2.005)	0.3247
Corrección por género	0.7055 (0.3554-1.4)	0.3185

P: valor de p de la regresión logística OR: Odds Ratio/Razón de Momios IC: Intervalo de confianza
*Corregida por Bonferroni. Se muestran los valores obtenidos de P y OR (IC 95%) para los análisis: sin corrección y con corrección por ancestría al utilizar AIMS, además de una corrección por género.

VI.2. Análisis de TDT para el SNP rs3027898

Se realizó un análisis de TDT en 170 tríos para conocer si existe una contribución de alguno de los alelos al riesgo a LESP, y si alguno de los alelos se sobretransmite de padres a hijos. Se encontró que el alelo mayor C se sobretransmite, aunque no de manera significativa ($P=0.0792$) (Tabla 10).

Tabla 10. Estudio de desequilibrio de transmisión (TDT)

SNP	Alelo sobre-transmitido	T:U	P
rs3027898	C	44:29	0.0792

P: valor de p del ensayo X2. T:U: Frecuencias de transmisión:frecuencias de no transmisión

VII Discusión.

Se ha observado la asociación de variantes genéticas localizadas en genes de la vía de IFN-I con LES, por lo cual es determinante conocer más acerca de cómo esta vía se encuentra relacionada con el desarrollo de esta enfermedad. Aún más, en la mayoría de los pacientes con LES existen niveles elevados de IFN- α en suero, lo cual indica la importancia de esta vía en la etiopatogenia del LES ^{60, 84}. A través de estudios de GWAS y de gen candidato, a la fecha se han reportado más de 60 loci asociados a LES, los cuales se localizan principalmente en genes de la respuesta inmune innata y adaptativa ^{47,48}. Entre ellos, se encuentra uno de los genes clave de la vía del IFN-I, *IRAK1*, que ha sido asociado a LES en distintas poblaciones ^{73,74, 85}. Aunque el rs3027898, localizado en el 3'UTR de *IRAK1*, se ha estudiado en otras enfermedades autoinmunes ⁷⁵⁻⁸⁰, ha sido poco estudiado en LES.

Al comparar las frecuencias alélicas de los controles del presente estudio con las reportadas en la base de datos 1000 genomas para otras poblaciones, se observó una frecuencia más baja del alelo menor A (39%), sólo mayor de la reportada para la población china (16%) ⁸³. Llama la atención que al comparar las frecuencias de los mexicanos mestizos de este estudio, con aquellos con residencia en Los Ángeles, California (MXL), se observan diferencias significativas (Tabla 6). Esto podría deberse a la heterogeneidad de la población mexicana, y al origen y ancestría de las poblaciones estudiadas en ambos casos. Por su parte, la población del presente estudio está compuesta por una población mestiza que fue captada en la Ciudad de México, mientras que el origen de la población MXL de la base de 1000 genomas es desconocido ⁸³. Lo anterior toma relevancia ya que se ha reportado que existe un gradiente de ancestría amerindia baja en el norte del país, mientras que en sur ésta es mayor ⁸⁶. Lo anterior fue considerado en el presente estudio al realizar una estratificación poblacional con el uso de AIMs previamente reportados para la población mexicana ⁴⁶.

En lo que respecta a las frecuencias alélicas, comparando a los pacientes con LESp y controles, se observó una mayor frecuencia del alelo menor A en los controles comparada con la observada en los pacientes. En la población Han de China Beijing⁸⁰ también se noto una mayor frecuencia del alelo A en los controles.

Aunque el alelo menor es considerado de riesgo en otras enfermedades, en este estudio se observó que la mayoría de los pacientes presentan el alelo mayor C en su genotipo, lo cual concuerda con los resultados de TDT en los que se presentó una sobretransmisión de este en comparación con el alelo A, por lo tanto el alelo mayor C se considera el alelo de riesgo. Esto se corroboró en la tabla 8, al estar asociado a susceptibilidad a LESp como alelo de riesgo (OR=1.43). De manera interesante, se observó el mismo comportamiento en la población china, en la que también se encontró en mayor porcentaje el alelo C en pacientes con LES, y este alelo se encuentra asociado a esta enfermedad, mientras que el alelo A es tomado como referencia⁸⁰. Asimismo, al comparar los OR entre la población mexicana y china, se evidencia que son similares (1.43 vs 1.438, respectivamente). Esto indicaría posiblemente que el alelo de riesgo en realidad es el alelo mayor C.

Cuando se realiza la corrección por ancestría, se mantiene la asociación con LESp (OR=1.639). Lo anterior, aunado a las altas frecuencias de este alelo tanto en controles como en pacientes con LESp, sugiere que en la población mexicana éste ha sido seleccionado de manera positiva. Cabe mencionar que anteriormente se han reportado otros polimorfismos en genes de la vía de IFN-I que se encuentran seleccionados positivamente en mestizos mexicanos y que son heredados de la población indígena, como el haplotipo de riesgo en el gen *IRF5*⁵⁷. Otro estudio en el que se realizó un GWAS con muestras de individuos de origen amerindio, se identificó un polimorfismo localizado en *IRAK1* (rs1059792) asociado a LES como de protección (OR 0.58)⁸⁷, demostrando la asociación de alelos procedentes de población amerindia con esta enfermedad, como ha sido previamente reportado. Esta observación se sustenta con el hecho que el número de alelos para que se confiera riesgo a LES en la población amerindia o nativa americana es alto⁸⁷.

Otro aspecto interesante es la tendencia a la sobretransmisión del alelo de riesgo C, aún y cuando los resultados no fueron significativos. La prueba de TDT arrojó un valor estadístico de $P=0.05$, esto podría deberse a que el número de tríos analizados no sea el suficiente para obtener una significancia estadística, por lo que se considerará aumentar este número en futuros estudios. Son pocos los análisis de asociación por TDT que se han realizado en LESp, por esta razón se tiene poco conocimiento al respecto, en especial de *IRAK1*. En un estudio, se demostró que un SNP localizado en *IRAK1* además de estar asociado a LESp también se sobretransmite⁷³, por lo que es importante seguir realizando este tipo de estudios para conocer más acerca del trasfondo genético de esta enfermedad.

La NL es una de las afecciones más comunes en LES y que compromete más la vida de los pacientes. En este estudio no se encontró asociación del polimorfismo con NL. Al comparar estos datos con estudios previos, se evidenció que en pacientes suecos adultos el SNP rs1059792, localizado en *IRAK1*, está asociado con NL⁸⁸. Si bien son distintos SNPs en el mismo gen, es necesario conocer las particularidades de cada población. Además se ha señalado previamente, que de los genes de la vía del IFN-I, como TLR y NF- κ B, son importantes para la regulación de las células renales⁵². Los riñones dañados por NL expresan múltiples TLRs, los cuales implican la señalización de múltiples proteínas como MyD88, TRAF6 e incluso *IRAK1*. Por esta razón, aunque la asociación para el rs3027898 no fuera significativa, sería valioso realizar una correlación de la expresión con NL de *IRAK1*, ya que se tiene nulo conocimiento de esta proteína respecto a la NL, es necesario evaluar la expresión independiente de la asociación.

Finalmente, al encontrar asociación de este polimorfismo con LESp, resultaría interesante evaluar si este tiene alguna implicación funcional. Este SNP se localiza en la región codificante del gen de *IRAK1*, en la región 3'UTR por lo que podría clasificarse como srSNP, y tener algún efecto sobre la expresión del ARNm de *IRAK1* en los pacientes con LESp.

VIII Conclusiones.

- El alelo C del polimorfismo rs3027898, localizado en *IRAK1*, se encuentra asociado a susceptibilidad a LESP como alelo de riesgo, no se asoció a NL.
- Existe una tendencia a la sobretansmisión del alelo C de padres a hijos.
- Al estar más frecuente este alelo en la población mexicana, se sugiere que el alelo de riesgo C sea de origen amerindio.

IX Referencias

1. López, P., Mozo, L., Gutiérrez, C. y Suárez, A. Epidemiology of systemic lupus erythematosus in a northern Spanish population: gender and age influence on immunological features. *Lupus* **12**, 860–865 (2003).
2. Levy, D. y Kamphuis, S. *Systemic lupus erythematosus in children and adolescents. Pediatr Clin N Am* **59**, 345–64 (2012).
3. Harley, J., Kelly, J. y Kaufman, K. Unraveling the genetics of systemic lupus erythematosus. *Springer Semin Immun* **28**, 119–30 (2006).
4. Mina, R. y Brunner, H. Update on differences between childhood-onset and adult-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther* **15**, 218 (2013).
5. Hochberg, M. C. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism* **40**, 1725 (1997).
6. Borchers, AT, Keen, CL, Shoenfeld, Y y Gershwin, ME. Surviving the butterfly and the wolf: mortality trends in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Reviews* (2004).
7. Hiraki, L. *et al.* Prevalence, incidence, and demographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis from 2000 to 2004 among children in the US medicaid beneficiary population. *Arthritis Rheumatism* **64**, 2669–2676 (2012).
8. Bernatsky, S. *et al.* Mortality in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **54**, 2550–7 (2006).
9. Borchers, A. T. *et al.* Lupus nephritis: a critical review. *Autoimmun Rev* **12**, 174–94 (2012).
10. Brugos, B., Kiss, E., Szodoray, P., Szegedi, G. y Zeher, M. Retrospective analysis of patients with lupus nephritis: data from a large clinical immunological center in Hungary. *Scand J Immunol* **64**, 433–7 (2006).
11. Borchers, AT, Naguwa, SM & Shoenfeld, Y. The geoepidemiology of systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. **9**, 277-287 (2010).

12. Tarr, T. Dérfalvi B, Győri N, Szántó A, Siminszky Z, Malik A, Szabó AJ, Szegedi G, Zeher M. Similarities and differences between pediatric and adult patients with SLE. *Lupus* **24**, 796–803 (2015).
13. Kamphuis, S. y Silverman, E. Prevalence and burden of pediatric-onset systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol* **6**, 538–546 (2010).
14. Habibi, S, Saleem, MA y Ramanan, AV. Juvenile systemic lupus erythematosus: review of clinical features and management. *Indian pediatrics* (2011).
15. Pluchinotta, F. *et al.* Distinctive clinical features of pediatric systemic lupus erythematosus in three different age classes. *Lupus* **16**, 550–555 (2007).
16. Bader-Meunier, B. *et al.* Initial presentation of childhood-onset systemic lupus erythematosus: A French multicenter study. *J Pediatrics* **146**, 648–653 (2005).
17. Jasmin, R., Sockalingam, S., Cheah, T. y Goh, K. Systemic lupus erythematosus in the multiethnic Malaysian population: disease expression and ethnic differences revisited. *Lupus* **22**, 967–971 (2013).
18. Singh, S y Saxena, R. Lupus nephritis. *The American journal of the medical* **337**, 451-460 (2009).
19. Hoffman, I. *et al.* Juvenile-onset systemic lupus erythematosus: different clinical and serological pattern than adult-onset systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* **68**, 412–415 (2009).
20. Hiraki, L. *et al.* Clinical and laboratory characteristics and long-term outcome of pediatric systemic lupus erythematosus: a longitudinal study. *J Pediatrics* **152**, 550–6 (2007).
21. Hui-Yuen, J. *et al.* Early versus later onset childhood-onset systemic lupus erythematosus: Clinical features, treatment and outcome. *Lupus* **20**, 952–959 (2011).
22. Yeh, TT, Yang, YH, Lin, YT y Lu, CS. Cardiopulmonary involvement in pediatric systemic lupus erythematosus: a twenty-year retrospective analysis. ... = *Wei mian yu gan ran za.* **6**, 525-531 (2007).
23. Malattia, C. y Martini, A. Paediatric-onset systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatology* **27**, 351–362 (2013).

24. Papadimitraki, E. e Isenberg, D. Childhood- and adult-onset lupus: an update of similarities and differences. *Expert Rev Clin Immunol* **5**, 391–403 (2009).
25. Livingston, B., Bonner, A. y Pope, J. Differences in clinical manifestations between childhood-onset lupus and adult-onset lupus: a meta-analysis. *Lupus* **20**, 1345–1355 (2011).
26. Velázquez-Cruz, R. Jiménez-Morales, S, Ramírez-Bello, J. Aguilar-Delfín, I, Salas-Martínez, G, Baca Ruíz, V. y Orozco Orozco, L. Lupus eritematoso sistémico (LES): genómica de la enfermedad. *Gaceta Médica de México* 371–80
27. Grimaldi, C., Hill, L., Xu, X., Peeva, E. y Diamond, B. Hormonal modulation of B cell development and repertoire selection. *Mol Immunol* **42**, 811–20 (2005).
28. Grygiel-Górniak, B. y Puszczewicz, M. The influence of endogenous and exogenous sex hormones on systemic lupus erythematosus in pre- and postmenopausal women. *Przegląd Menopauzalny Menopause Rev* **13**, 262–6 (2014).
29. Enríquez-Mejía. Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico. *Revista de Medicina e Investigación* **1**, 8–16 (2013).
30. Khan, D. y Ahmed, A. The Immune System Is a Natural Target for Estrogen Action: Opposing Effects of Estrogen in Two Prototypical Autoimmune Diseases. *Front Immunol* **6**, 635 (2016).
31. Kassi, E. y Moutsatsou, P. Estrogen receptor signaling and its relationship to cytokines in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnology* **2010**, 317452 (2010).
32. Kanda, N. y Tamaki, K. Estrogen enhances immunoglobulin production by human PBMCs. *The Journal of allergy and clinical immunology* **103**, 282–8 (1999).
33. Hughes, G. C. Progesterone and autoimmune disease. *Autoimmun Rev* **11**, A502–14 (2012).
34. McMurray, RW y May, W. Sex hormones and systemic lupus erythematosus: Review and meta-analysis. *Arthritis & Rheumatism* (2003). doi:10.1002/art.11105
35. Buyon, J. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. *Annals of internal medicine* **142**, 953–62 (2005).

36. Rahman, A. y Isenberg, D. Systemic Lupus Erythematosus. *New England Journal of Medicine* (2008). doi:10.1056/NEJMra071297
37. McClain, M. Heinen LD, Dennis GJ, Roebuck J, Harley JB, James JA. Early events in lupus humoral autoimmunity suggest initiation through molecular mimicry. *Nat Med* **11**, 85–89 (2004).
38. Kuechle, M. y Elkon, K. Shining light on lupus and UV. *Arthritis Res Ther* **9**, 101 (2007).
39. Su, Y.-J. Heng TT, Chen CJ, Chiu WC, Hsu CY, Chang WN, Tsai NW, Kung CT, Wang HC, Lin WC, Huang CC, Chang YT, Su CM, Chiang YF, Cheng BC, Lin YJ, Lu CH. The association among leukocyte apoptosis, autoantibodies and disease severity in systemic lupus erythematosus. *J Transl Med* **11**, 1–7 (2013).
40. Fadok, V. Fadok VA, Xue D, Henson P. A receptor for phosphatidylserine-specific clearance of apoptotic cells. *Nature* **405**, 85–90 (2000).
41. Shaw, P. X. *et al.* Human-derived anti-oxidized LDL autoantibody blocks uptake of oxidized LDL by macrophages and localizes to atherosclerotic lesions in vivo. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* **21**, 1333–9 (2001).
42. Deafen, D. Escalante A, Weinrib L, Horwitz D, Bachman B, Roy-Burman P, Walker A, Mack TM. A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatism* **35**, 311–318 (1992).
43. Block, S. A brief history of twins. *Lupus* **15**, 61–64 (2006).
44. Alarcón-Segovia, D.. Familial aggregation of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and other autoimmune diseases in 1,177 lupus patients from the GLADEL cohort. *Arthritis Rheumatism* **52**, 1138–1147 (2005).
45. Ghodke-Puranik, Y. y Niewold, T. Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. *J Autoimmun* **64**, 125–136 (2015).
46. Kosoy, R. Nassir R, Tian C, White PA, Butler LM, Silva G, Kittles R, Alarcon-Riquelme ME, Gregersen PK, Belmont JW, De La Vega FM, Seldin MF.. Ancestry informative marker sets for determining continental origin and admixture proportions in common populations in America. *Hum Mutat* **30**, 69–78 (2009).
47. Iniesta, R, Guinó, E y Moreno, V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria* (2005).

48. Ramírez-Bello, J., Vargas-Alarcón, G. y Fragoso, J. M. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gaceta Médica de México* **149**, 220–8 (2013).
49. Kim, B.-C. C. *et al.* SNP@Promoter: a database of human SNPs (single nucleotide polymorphisms) within the putative promoter regions. *BMC bioinformatics* **9 Suppl 1**, S2 (2008).
50. Guo, Y. y Jamison, D. The distribution of SNPs in human gene regulatory regions. *Bmc Genomics* **6**, 140 (2005).
51. Feero, W. G., Guttmacher, A. E. y Collins, F. S. Genomic medicine--an updated primer. *The New England Journal of Medicine* **362**, 2001–11 (2010).
52. Mohan, C. y Putterman, C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nat Rev Nephrol* **11**, 329–41 (2015).
53. Harley, I., Kaufman, K., Langefeld, C., Harley, J. y Kelly, J. Genetic susceptibility to SLE: new insights from fine mapping and genome-wide association studies. *Nat Rev Genetics* **10**, 285–90 (2009).
54. Tsokos, G. Systemic Lupus Erythematosus. *New England Journal of Medicine* **365**, 2110–2121 (2011).
55. Baca, V. Velázquez-Cruz R, Salas-Martínez G, Espinosa-Rosales F, Saldaña-Alvarez Y, Orozco L. Association analysis of the PTPN22 gene in childhood-onset systemic lupus erythematosus in Mexican population. *Genes Immun* **7**, 693–695 (2006).
56. Velázquez-Cruz, R. Orozco L, Espinosa-Rosales F, Carreño-Manjarrez R, Solís-Vallejo E, López-Lara ND, Ruiz-López IK, Rodríguez-Lozano AL, Estrada-Gil JK, Jiménez-Sánchez G, Baca V. Association of PDCD1 polymorphisms with childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Eur J Hum Genet* **15**, 336–341 (2007).
57. Reddy, M. *et al.* Genetic association of IRF5 with SLE in Mexicans: higher frequency of the risk haplotype and its homozygosity than Europeans. *Hum Genet* **121**, 721–727 (2007).

58. Abelson, A.-K. *et al.* STAT4 associates with systemic lupus erythematosus through two independent effects that correlate with gene expression and act additively with IRF5 to increase risk. *Ann Rheum Dis* **68**, 1746–1753 (2009).
59. Han, S. *et al.* Evaluation of imputation-based association in and around the integrin- α -M (ITGAM) gene and replication of robust association between a non-synonymous functional variant within ITGAM and systemic lupus erythematosus (SLE). *Human Molecular Genetics* **18**, 1171–1180 (2009).
60. 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 NE, Gómez-Vera J, Baca V, Orozco L. Tumor necrosis factor-alpha is a common genetic risk factor for asthma, juvenile rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus in a Mexican pediatric population. *Hum Immunol* **70**, 251–6 (2009).
61. Pestka, S. The interferons: 50 years after their discovery, there is much more to learn. *The Journal of biological chemistry* **282**, 20047–51 (2007).
62. Ivashkiv, L. y Donlin, L. Regulation of type I interferon responses. *Nat Rev Immunol* **14**, 36–49 (2014).
63. Rönnblom, L. y Eloranta, M.-L. L. The interferon signature in autoimmune diseases. *Current opinion in rheumatology* **25**, 248–53 (2013).
64. Plataniias, L. Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat Rev Immunol* **5**, 375–386 (2005).
65. Berggren, O. IFN- production by plasmacytoid dendritic cell associations with polymorphisms in gene loci related to autoimmune and inflammatory diseases. *Human Molecular Genetics* **24**, 3571–3581 (2015).
66. Decker, T., Müller, M. y Stockinger, S. The yin and yang of type I interferon activity in bacterial infection. *Nat Rev Immunol* **5**, 675–87 (2005).
67. Gregersen, P. y Behrens, T. Genetics of autoimmune diseases--disorders of immune homeostasis. *Nat Rev Genetics* **7**, 917–28 (2006).
68. Sestak, A., Fürnrohr, B., Harley, J., Merrill, J. y Namjou, B. The genetics of systemic lupus erythematosus and implications for targeted therapy. *Ann Rheum Dis* **70**, i37–i43 (2011).

69. Weizmann Institute Of Science. GeneCards: The Human Gene Database.
70. Baechler, E., Gregersen, P. y Behrens, T. The emerging role of interferon in human systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Immunol* **16**, 801–7 (2004).
71. Wong, H. K., Kammer, G. M., Dennis, G. y Tsokos, G. C. Abnormal NF- κ B Activity in T Lymphocytes from Patients with Systemic Lupus Erythematosus Is Associated with Decreased p65-RelA Protein Expression. *J Immunol* **163**, 1682–1689 (1999).
72. Rahman, A. y Eisenberg, R. The role of toll-like receptors in systemic lupus erythematosus. *Springer Semin Immun* **28**, 131–143 (2006).
73. Jacob, C. Identification of novel susceptibility genes in childhood-onset systemic lupus erythematosus using a uniquely designed candidate gene pathway platform. *Arthritis Rheumatism* **56**, 4164–4173 (2007).
74. Jacob, C. Zhu J, Armstrong DL, Yan M, Han J, Zhou XJ, Thomas JA, Reiff A, Myones BL, Ojwang JO, Kaufman KM, Klein-Gitelman M, McCurdy D, Wagner-Weiner L, Silverman E, Ziegler J, Kelly JA, Merrill JT, Harley JB, Ramsey-Goldman R, Vila LM, Bae SC, Vyse TJ, Gilkeson GS, Gaffney PM, Moser KL, Langefeld CD, Zidovetzki R, Mohan C. Identification of IRAK1 as a risk gene with critical role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *P Natl Acad Sci Usa* **106**, 6256–61 (2009).
75. Chatzikiyriakidou, A., Voulgari, P., Georgiou, I. y Drosos, A. The role of microRNA-146a (miR-146a) and its target IL-1R-associated kinase (IRAK1) in psoriatic arthritis susceptibility. *Scand J Immunol* **71**, 382–5 (2010).
76. Zhang, H, Pu J, Wang X, Shen L, Zhao G, Zhuang C, Liu R. IRAK1 rs3027898 C/A polymorphism is associated with risk of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* **33**, 369–375 (2013).
77. Chatzikiyriakidou, A., Voulgari, P., Georgiou, I. y Drosos, A. A polymorphism in the 3'-UTR of interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK1), a target gene of miR-146a, is associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Joint Bone Spine* **77**, 411–413 (2010).

78. Song, G. G. Bae SC, Seo YH, Kim JH, Choi SJ, Ji JD, Lee YH. The association between susceptibility to inflammatory arthritis and miR-146a, miR-499 and IRAK1 polymorphisms. *Zeitschrift Für Rheumatologie* **74**, 637–645 (2015).
79. Hu, C.-Y. Zhang XA, Meyer CG, Thye T, Liu W, Cao WC. Polymorphism of X-linked CD40 ligand gene associated with pulmonary tuberculosis in the Han Chinese population. *Genes Immun* **16**, 399–404 (2015).
80. Zhai, Y. Xu K, Leng RX, Cen H, Wang W, Zhu Y, Zhou M, Feng CC, Ye DQ. Association of interleukin-1 receptor-associated kinase (IRAK1) gene polymorphisms (rs3027898, rs1059702) with systemic lupus erythematosus in a Chinese Han population. *Inflamm Res Official J European Histamine Res Soc* **62**, 555–60 (2013).
81. Purcell, S. Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MA, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PI, Daly MJ, Sham PCPLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am J Hum Genet* **81**, 559–75 (2007).
82. Barrett, J. C., Fry, B., Maller, J. y Daly, M. J. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* **21**, 263–5 (2005).
83. Unknown. 1000 Genomes .
84. Tucker, L. Uribe AG, Fernández M, Vilá LM, McGwin G, Apte M, Fessler BJ, Bastian HM, Reveille JD, Alarcón GS. Adolescent onset of lupus results in more aggressive disease and worse outcomes: results of a nested matched case-control study within LUMINA, a multiethnic US cohort (LUMINA LVII). *Lupus* **17**, 314–22 (2008).
85. Kaufman, K. M. Zhao J, Kelly JA, Hughes T, Adler A, Sanchez E, Ojwang JO, Langefeld CD, Ziegler JT, Williams AH, Comeau ME, Marion MC, Glenn SB, Cantor RM, Grossman JM, Hahn BH, Song YW, Yu CY, James JA, Guthridge JM, Brown EE, Alarcón GS, Kimberly RP, Edberg JC, Ramsey-Goldman R, Petri MA, Reveille JD, Vilá LM, Anaya JM, Boackle SA, Stevens AM, Freedman BI, Criswell LA, Pons Estel BA; Argentine Collaborative Group, Lee JH, Lee JS, Chang DM, Scofield RH, Gilkeson GS, Merrill JT, Niewold TB, Vyse TJ, Bae SC, Alarcón-Riquelme ME; BIOLUPUS network, Jacob CO, Moser Sivils K, Gaffney PM, Harley JB, Sawalha

AH, Tsao BP. Fine mapping of Xq28: both MECP2 and IRAK1 contribute to risk for systemic lupus erythematosus in multiple ancestral groups. *Annals of the rheumatic diseases* **72**, 437–44 (2013).

86. Silva-Zolezzi, I. Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, Balam-Ortiz E, del Bosque-Plata L, Velazquez-Fernandez D, Lara C, Goya R, Hernandez-Lemus E, Davila C, Barrientos E, March S, Jimenez-Sanchez G. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proc National Acad Sci* **106**, 8611–8616 (2009).

87. Alarcón-Riquelme, M. *et al.* Genome-Wide Association Study in an Amerindian Ancestry Population Reveals Novel Systemic Lupus Erythematosus Risk Loci and the Role of European Admixture. *Arthritis Rheumatology Hoboken N J* **68**, 932–43 (2016).

88. Bolin, K. Sandling JK, Zickert A, Jönsen A, Sjöwall C, Svenungsson E, Bengtsson AA, Eloranta ML, Rönnblom L, Syvänen AC, Gunnarsson I, Nordmark G. Association of STAT4 Polymorphism with Severe Renal Insufficiency in Lupus Nephritis. *Plos One* **8**, e84450 (2013).