

Los mecanismos moleculares de susceptibilidad y de protección dependientes del MHC en la diabetes tipo I en mexicanos

Clara Gorodezky,¹ Angélica Olivares,² Héctor Debazo,² Lourdes Rodríguez,^{2,3} Nelly Altamirano,⁴ Carlos Robles⁴

Resumen

Los genes clase II del MHC juegan un papel central en la destrucción autoinmune de las células b del páncreas, en la DMDI. Se investigó el patrón genético de la DMDI en mexicanos. Los hallazgos serológicos de HLA mostraron una asociación muy significativa con los antígenos DR3, DR4, DQ2 y DQ8 y un efecto protector de DR11, DR15, DQ5, DQ6 y DQ7. Con estos datos, se analizaron los alelos DRB1, B3, B4, DQA1, DQB1, DPA1 y DPB1 a nivel del DNA por PCR, hibridando con sondas alelo-específicas. El 92.7% de los pacientes portan alelos DQA1 que tienen ARG en la posición 52 de la cadena DQa y el 78.2% son ASP57- en la cadena DQ-. El RR para los homocigotos es de 32.8 y 5.6 respectivamente. El haplotipo principalmente involucrado es DRB1*0405, DQA1*0301, DQB1*0302. Se concluye que las cadenas DQa y DQ forman un sitio relevante para el reconocimiento del péptido "diabetogénico" que induce la respuesta autoinmune destructiva. Las posiciones 57 y 74 del gen DRB1 contribuyen importantemente a la expresión y a la severidad de la DMDI en mestizos y en otros grupos étnicos, pero no en caucásicos o negros.

Palabras clave: MHC, HLA, DRB1, DQA1, DQB1, haplotipos protectores, susceptibles

Summary

MHC class II genes play an important role in the autoimmune destruction of the pancreatic b-cell occurring in IDDM. The genetic pattern of the disease was investigated in Mexican Mestizos. The serological findings of HLA antigens showed a significant association of DR3, DR4, DQ2 and DQ8 and a protective effect of DR11, DR15, DQ5, DQ6 and DQ7. With these results, DNA analysis of HLA-DRB1, B3, B4, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 genes was performed using PCR with allele specific oligotyping. Among the patients, 92.7% carry DQA1 alleles that have ARG in position 52 of DQa chain, and 78.2% are ASP- in DQ5-57. The RR for homozygotes is 32.8 and 5.6, respectively. The main haplotype involved is DRB1*0405, DQA1*0301, DQB1*0302. Thus, DQa and DQb form a relevant recognition site for the "diabetogenic peptide" which induces the autoimmune destruction. Positions 57 and 74 of DRB1 locus contribute highly to the expression and severity of IDDM in Mestizos and other ethnic groups, but not in Caucasians or Blacks

Key words: MHC, HLA, DRB1, DQA1, DQB1, protective and susceptible haplotypes

¹ Jefe del Departamento de Inmunogenética, Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, SSA

² Investigadores del Departamento de Inmunogenética, Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, SSA

³ Profesor de Inmunología del CICS, Instituto Politécnico Nacional.

⁴ Unidad de Crecimiento y Desarrollo, Instituto Nacional de Pediatría, SSA.

Introducción

La diabetes *mellitus* dependiente de insulina (DMDI) o diabetes tipo I es una enfermedad autoinmune de tipo crónico, cuya deficiencia en la producción de insulina se debe a la destrucción de las células β del páncreas por los linfocitos T que infiltran a los islotes de Langerhans.¹ Es una enfermedad multifactorial, en la que los factores ambientales parecen ser parcialmente responsables de la expresión, pues los estudios familiares y de gemelos idénticos, han mostrado una concordancia en la segregación que va del 30 al 50% con un riesgo muy alto de que los familiares de primer grado adquieran la enfermedad.²

Es indudable que los genes del complejo principal de histocompatibilidad (MHC), cuya función central es la inducción y regulación de la respuesta inmunológica³ mediante la presentación de péptidos, son relevantes en la etiopatogénesis de la DMDI. Los antígenos DR3 y DR4 se hallan asociados en el 90% de los pacientes caucásicos,⁴ y en algunos aparecen DR1 y DR8.⁵ Es importante señalar que las asociaciones difieren en otros grupos. Así, en negros aparece el DR7,⁶ en japoneses, DR4 y DR9⁷ y en chinos DR3 y DR9.⁸

El análisis molecular de los genes clase II ha revelado en los últimos años, que los *loci* DQA y DQB están fuertemente implicados en la susceptibilidad y resistencia a la expresión de la DMDI. La asociación primordial ha sido con los haplotipos DQB1*0302-DQA1*0301 y DQB1*0201-DQA1*0501 que están ligados a los antígenos DR4 y DR3 respectivamente.^{9, 10} El análisis de secuencias ha demostrado que la susceptibilidad depende de un solo aminoácido en la posición 57 de la cadena DQ β , es decir, la ausencia de Asp(D); su presencia confiere protección.¹¹ Más adelante, el modelo incluyó la contribución de la cadena DQ α , pues la presencia de Arg(R) en la posición 52 junto con la ausencia de D en DQB-57, son un factor de riesgo muy alto en los japoneses,¹² caucásicos¹⁰ y negros.¹³ Es importante señalar que existen asociaciones DR-DQ distintas dependiendo de la población, debido a las recombinaciones que ocurren entre los dos *loci* y más finamente entre DQA1 y DQB1. La forma de distinguir las asociaciones genéticas primarias de las debidas al desequilibrio de ligamiento (*r*), es estudiar una gran diversidad

de grupos étnicos. Por otro lado, si la DMDI es la misma entidad clínica en todas las poblaciones, los alelos o epitopes responsables serán siempre los mismos, independientemente de que los *r* sean diferentes en cada grupo. Por último, es importante mencionar que la DMDI muestra una diferencia impactante en la incidencia anual entre las 8 distintas poblaciones. Así, en Finlandia es de 30/100,000, mientras que en Japón es de 1/100,000. Es menor en el centro y sur de Europa que en el norte, y es muy llamativo el hecho de que en Cerdeña es de 32/100,000, mientras que en España, estando en la misma latitud es de 11.3/100,000.¹⁴ México es uno de los países con incidencia más baja del mundo (2/100,000).¹⁵ Estos datos han sugerido que puede haber una interacción importante entre los factores ambientales y genéticos que contribuyen a las diferencias tan dramáticas. Recientemente se ha mostrado que la variación en la distribución de los alelos que contienen no-D en DQB-57, pueden explicar en forma muy importante, mucho de la variación geográfica de la incidencia de la DMDI.^{16, 17} Es esencial considerar que en la complejidad de la DMDI, el individuo genéticamente susceptible, quizá se infecta con uno o más virus antes de que se desencadene el padecimiento, y es fundamental desglosar cuidadosamente las interacciones genéticas y ambientales para entender la DMDI. En la figura 1 se muestra un esquema de estas interacciones. Con estos antecedentes, se consideró que la determinación, de los posibles antígenos HLA clase II en mestizos mexicanos, sería de gran importancia, para luego localizar las secuencias moleculares responsables tanto de la protección como de la susceptibilidad, con el fin de explicar por lo menos en parte, la etiopatogénesis de la diabetes tipo I y pensar en posibles terapias génicas en el futuro próximo.

Material y métodos

Se estudiaron sujetos mestizos mexicanos no relacionados. Para el análisis de antígenos HLA clase I y II, se incluyeron 137 pacientes y 229 individuos aparentemente sanos. Se analizaron al nivel del DNA 85 sanos y 142 enfermos. Los pacientes se diagnosticaron como diabéticos tipo I por endocrinólogos expertos, de acuerdo a los

criterios de la OMS y del *National Diabetes Data Group*.¹⁸ Pertenecen a la consulta de diabetes de la Unidad de Crecimiento y Desarrollo del Instituto Nacional de Pediatría. El 52.5% son pacientes femeninas; la edad promedio fue de 11.9 ± 4.15 y la edad de inicio de 8.64 ± 4.2 . El tiempo de evolución de la enfermedad en el momento del estudio era de 3.3 ± 3.2 años. La mayoría son originarios del Distrito Federal (51.8% vs 64.2%) y el resto en frecuencia baja de Guadalajara, Hidalgo, Edo. de Mexico y otros estados. El 10.5% tenían asociados otros padecimientos crónicos como tiroiditis, vitiligo, bocio difuso, hipertiroidismo, Hashimoto, escleroderma, enfermedad articular y cardio-patía reumática.

y DQ.²⁰ Se incluyeron 540 reactivos que comprendían aloantisueros y monoclonales del Banco de Sueros del Departamento de Inmunogenética y del II Taller Internacional de Histocompatibilidad.²¹ La reacción se visualizó en microscopio invertido de contraste de fases, usando eosina.

Tipificación de genes clase II con PCR y oligonucleótidos sintéticos

Todos los métodos, así como los iniciadores y las sondas de oligonucleótidos empleadas, son del protocolo del II Taller Internacional de Histocompatibilidad.²¹ El DNA se extrajo de

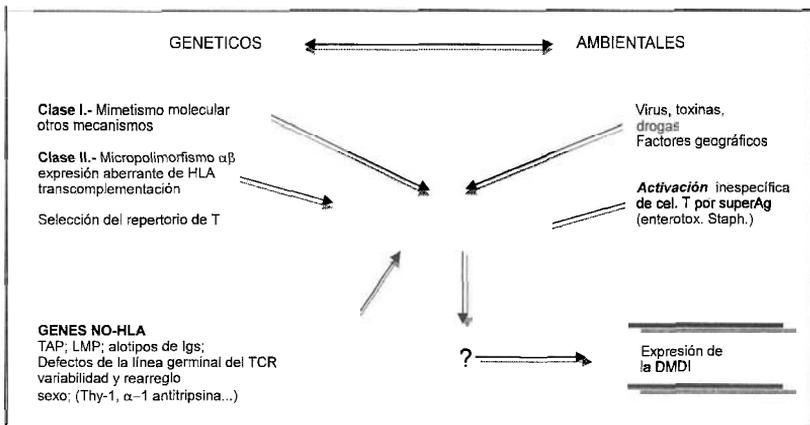


Figura 1. Interacción de factores genéticos y ambientales en la expresión de la DMDI

Tipificación serológica de antígenos HLA

Se separaron las células mononucleares a partir de sangre venosa, con una solución de ficoll-hypaque y se purificaron linfocitos T y B mediante columnas de nylon, usando los métodos ya descritos.¹⁹ Los antígenos HLA se tipificaron con la técnica estándar de microlinfocitotoxicidad, empleando subpoblaciones de linfocitos T para el análisis de clase I, HLA-A, B y C y linfocitos B para la tipificación de antígenos clase II DR, DR52 y 53

leucocitos obtenidos usando el método del fenol/ cloroformo/ alcohol isoamílico, después de tratar a las células con amortiguador de lisis de rojos y proteinasa K. El DNA se amplificó automáticamente usando 30 ciclos y 2.5U de Taq-polimerasa. Los iniciadores utilizados amplifican el segundo exón polimórfico de los genes DRB1, DQA1, DQB1, DPA1 y DPB1. En el Cuadro I se muestran las características de los iniciadores genéricos. También se usaron iniciadores grupo-específico para amplificar a los subtipos del DR1, DR2, DR4 y los

asociados al DR52 para identificar todo el micropolimorfismo. Se sembró el producto de la PCR en membranas de nylon. La tipificación de todos los alelos se hizo usando sondas de oligonucleótidos secuencia-específicas (SSOs) que se marcaron con P³² con polinucleótido-cinas. Después de hibridar a 42°C, las membranas se lavaron con TMAC a 69°C (cloruro de tetrametilamonio) o 6X SSPE (Solución Salina Fosfato EDTA) a la Tm de cada sonda.

Cuadro I. Iniciadores HLA clase II*

Nombre	Secuencia	EXON
DRB AMP-A	CCC CAC AGC ACG TTT CTT G	2
DRB AMP-B	CCG CTG CAC TGT GAA CCT CT	247pB
DQA AMP-A	ATG GTG TAA ACT TGT ACC AGT	2
DQA AMP-B	TTG GTA GCA GCG GTA GAG TTG	229pB
DQB AMP-A	CAT GTG CTA CTT CAC CAA CGG	2
DQB AMP-B	CTG GTA GTT GTG TCT GCA CAC	214pB
DPA AMP-A	GCG GAC CAT GTG TCA ACT TAT	2
DPA AMP-B	GCC TGA GTG TGG TTG GAA CG	240pB
DPB AMP-A	GAG AGT GGC GCC TCC GTC CAT 2	
DPB AMP-B	GCC GGC CCA AAG CCC TCA CTC	327pB

* Las secuencias fueron diseñadas para el trabajo desarrollado en el XI Taller Internacional de Histocompatibilidad.²⁷ También se usaron los iniciadores para el grupo DRB-DR1, DRB1-DR2, DRB1-DR4, DRB1-52 y DRB3-53.

Se utilizaron 45 sondas para DRB1, B3 y B4; 17 para DQA1; 22 para el gen DQB1; 4 para DPA1 y 20 para DPB1. Con estas se identifican 144 alelos de clase II.

Análisis estadístico

Se obtuvieron frecuencias antigénicas y génicas para las proteínas HLA. Para los genes se obtuvieron frecuencias alélicas. Se compararon las frecuencias de cada antígeno y alelo en los sanos contra los pacientes usando la X² Yates. El valor de la p se corrigió multiplicando por el número de comparaciones hechas. Se obtuvo el riesgo relativo (RR), la fracción etiológica (FE) y la fracción preventiva (FP)

para los antígenos asociados. Los métodos estadísticos están descritos en la literatura.²³

Resultados

No hay ninguna diferencia entre los pacientes y los testigos en cuanto a la distribución geográfica y clínicamente los enfermos tienen las mismas manifestaciones que las de otras poblaciones. En el Cuadro II se señalan las asociaciones positivas y negativas de los antígenos HLA. Es evidente que los antígenos DR3, DR4, DQ2 y DQ8 contribuyen a la susceptibilidad, mientras que DR11, DR15S DQ5, DQ6, y DQ7 confieren protección.

Cuadro II. Marcadores HLA en mexicanos con DMDI

Antígeno HLA	P (n = 137) FA (%)	T (n = 229) FA (%)	Pc	RR	FE	FP
DR3	37.0	6.5	0.0001	8.4	0.67	
DR4	57.7	25.3	0.0001	3.9	0.42	
DR11	4.4	19.7	0.003	0.2		0.33
DR15	6.0	18.8	0.03	0.3		0.41
DQ2	51.5	21.8	0.001	3.8	0.43	
DQ8	41.8	18.7	0.001	4.4	0.55	
DQ5	3.7	19.7	0.001	0.2		0.33
DQ6	6.7	44.9	0.0001	0.1		0.45
DQ7	26.2	40.2	NS	0.5		0.20

n = Número de pacientes; FA = Frecuencia Antigénica; Pc = Probabilidad corregida; RR = Riesgo Relativo; FE = Fracción Etiológica; FP = Fracción Preventiva

En el Cuadro III se observan los alelos de susceptibilidad y en el Cuadro IV se indican los de protección dentro de los *loci* DRB1, DQA1 y DQB1. Los genes DPA1 y DPB1 no contribuyen a la etiopatogénesis de la DMDI en mexicanos. Los alelos asociados más intensamente son DRB1*0405 (RR = 451, FE = 0.20; totalmente ausente de los sanos) y *0301 (RR = 21, FE = 0.50). DQA1*0300 (RR = 11, FE = 0.80) y *0501 (RR = 1, FE = 0) los cuales se hallan en el 97.7% de los pacientes contra el 53% en los sanos y son R+ en la posición DQA-52. DQB1*0201 y *0302 (RR = 6.5, FE = 0.40; y RR = 10.0, FE = 0.70) que están en el 52.4% y 78.2% de los diabéticos contra el 14.1% y 25.9% respectivamente en los sanos. Los alelos de protección (Cuadro IV) son en el *locus*

DRB1: *1100, *1602, *06, *1501,*0802, *0403 y *0406; en DQA1: *0104, *0401 y *0101; y en DQB1: *0501, *0301 y *0402. En la Figura 2 se muestran las ampliaciones del gen DQA y del DQB y en la Figura 3 se observan dot-blot-hibridados con sondas DQA y DQB. La Figura 3a muestra a la sonda DQA*0501 que es de susceptibilidad (S) porque es R+. La Figura 3b muestra al DQB*0302 que es un alelo "S". Un aspecto muy interesante es que los haplotipos "S" (Cuadro V) que involucran a las posiciones DRB57/74, DQA-52(R+) y DQB-57(D-) están en el 87.8% de los pacientes y de éstos, el 68.8% son haplotipos que no tienen glutámico (E) en la posición 74 de DRB1 mientras que sólo el 27.9% de los testigos tienen heterodímeros DQA/DQB "S", pero es impactante que sólo el 8.4% tienen un alelo DRB1 con ausencia de E. El 100% de los pacientes con estos haplotipos tienen R+ en DQA-52 y D- en DQB-57 y sólo 27.9% de los sanos los portan. Finalmente, es de gran interés señalar que el 99% de los enfermos tienen por lo menos 2 heterodímeros DQA/DQB "S" contra 55.8% de los sanos y el 95% tienen por lo menos 3 heterodímeros "S" ya sea en cis o en trans, mientras que únicamente se hallan en 38.7% de los sanos (Cuadro VI). Los genotipos homocigotos DQA SS ocurren en pacientes y sanos en 84% y 49% respectivamente (RR = 5.6) y los homocigotos DQB DD están presentes en 75% vs 24.2% (RR = 32.8).

Cuadro III. Alelos de susceptibilidad en la DMDI en México

Alelo	Pacientes FP/FA n = 142%	Testigos FP/FA n = 85%	p	RR	FE
DRB1					
*0301	51.4/25.7	4.7/2.5	< 0.00001	21.4	0.49
*0400	73.2/36.6	11.8/6.3	< 0.00001	20.5	0.7
*0402	12.7/2	0/0	0.003	24.8	0.11
*0404	13.7/9	0/0	0.001	27.8	0.13
*0405	20/13.8	0/0	0.00005	45.0	0.2
DQA1					
*03011 + 0302	67.2/34.1	22.4/12.1	0.04	2	0.18
*0300	92.7/46.7	53/28.7	< 0.00001	10.7	0.84
*0501	51.2/25.8	51.8/28	0.02	0.97	-0.01
DQB1					
*0201	52.4/26.5	14.1/8.1	< 0.00001	6.5	0.44
*0302	78.2/39.6	25.9/14.9	< 0.00001	10	0.7

FP Frecuencia en la población; FA = Frecuencia alélica
p = probabilidad, RR = Riesgo Relativo. FE = Fracción Etiológica

Cuadro IV. Alelos de protección en la DMDI en México

Alelo	Pacientes n = 142 %	Testigos n = 85 %	p	RR	FP
DRB1					
*0403	1/0.7	9.4/5.1	0.01	0.19	0.06
*0406	0/0	2.4/1.3	0.04	0.22	0
*0800	24.6/12.3	35.3/19	0.05	0.6	0.14
*1100	4.2/2.1	16.5/8.9	0.0007	0.23	0.12
*06	6.6/3.3	30.6/16.5	< 0.0000.1	0.14	0.25
*02	0/0	3.5/1.9	0.001	0.31	0.14
*1501	7/3.5	7.1/3.8	0.006	0.96	0.02
*1602	0/0	9.4/5.1	0.00004	0.03	0
DQA1					
*0101	6.5/3.3	15.2/8.3	0.02	0.04	0.009
*0104	3/1.5	9.4/5.1	0.003	0.2	0.06
*0401	18.7/9.4	33/17.8	0.01	0.47	0.17
DQB1					
*0501	8.1/4.1	18.8/10.8	0.01	0.39	0.11
*0301	11.3/5.7	56.5/32.4	< 0.00001	0.1	0.5
*0402	16.9/8.6	27.1/15.5	0.05	0.5	0.12

FP = Frecuencia en la población, FA = Frecuencia alélica
p = probabilidad, RR = Riesgo Relativo, FP = Fracción Preventiva

Cuadro V. Haplotipos diabetogénicos DRB1-DQA1-DQB1

	P(%)	T(%)
DRB*0301 - DQA*0501 - DQB *0201	35.9	6.2
DRB*0405 - DQA*0301 - DQB *0302	20.6	0
DRB*0407 - DQA*0301 - DQB *0302	19.0	19.3
DRB*0404 - DQA*0301 - DQB *0302	6.8	0
DRB*0301 - DQA*0301 - DOB *0302	5.5	2.4

P = Pacientes; DQA(ARG 52+); DQB(ASP 57 -);
T = Testigos, DRB(GLU 74 -/ASP 57-)

Cuadro VI. Posibles heterodímeros de cadenas DQA y DQB en cis o trans

DQB	DQA	Pacientes n = 57		Testigos n = 70	
		n	%	n	%
SS	SS	36	63	7	10.0
SP	SS	9	16	4	5.8
PP	SS	1	2	11	15.8
SS	SP	8	14	5	7.1
SP	SP	2	4	12	17.1
PP	SP	0	0	16	27.1
SS	PP	1	2	5	7.1
SP	PP	0	0	4	5.7
PP	PP	0	0	3	4.3

S = Susceptibles; P = Protectores

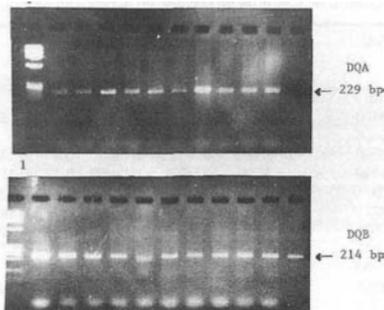


Figura 2. DNAs Amplificados por PCR para el gen DQA (arriba) y DQB (abajo). La flecha y el número indican el tamaño del producto amplificado en pares de bases (bp). 1.- Marcador de peso molecular en bp (IX 174-HaeIII).

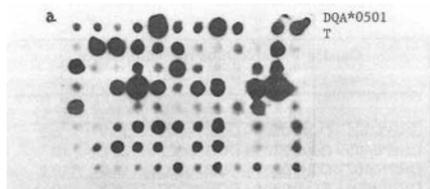


Figura 3a. Hibridación de DNAs de sujetos sanos con la sonda monoespecífica DQA 7504 que reconoce al alelo DQA*0501. Los datos intensos son los positivos. Este alelo es Arg(+) y su frecuencia en pacientes con diabetes tipo 1 es muy alta.



Figura 3b. Hibridación de DNAs de pacientes diabéticos con una sonda DQB1*0302 (D-); la mayoría son positivos.

Discusión

Los resultados indican claramente que el análisis transracial es indispensable para aclarar la naturaleza de la asociación en la DMDI. Los hallazgos en mestizos demuestran, sin lugar a dudas, la contribución de los genes DRB1, que no se obser-

va en población caucásica, negra o japonesa,^{10, 12, 13} pero su participación es clara en españoles²⁴ y en dos estudios recientes hechos en México-americanos. Uno incluyó sólo 35 casos de residentes del condado de Los Angeles,²⁵ número muy pequeño para concluir la participación del DRB1. El otro es un estudio de 41 familias con 252 hermanos, del área de San Francisco,²⁶ cuyos resultados son consistentes. Valga enfatizar que el DRB1*0405 observado aquí y que está ausente de la población sana, también está asociado en el estudio de Erlich y col²⁵ y en los españoles,²⁶ lo que sugiere que la combinación de aminoácidos cargados en la posición 57 (D+) y E* en la 74 de la cadena DRB es fundamental en ciertas poblaciones, de modo que los haplotipos que contienen a los alelos del DR4 y del DR3 son de alto riesgo. Hay un gradiente que va desde la susceptibilidad con DRB1*0405, *0404 y *0402 del DR4 y *0301 del DR3 hasta la protección mediada por los alelos "P" DRB1*0403, *0407, *1100, *1602 *1501 y *0802. Es importante señalar que hay muchos alelos concordantes, tanto protectores como susceptibles, pero hay ciertas discordancias entre el análisis de Erlich y éste que se deben resaltar, ya que esto demuestra las diferencias en la carga genética de ambos grupos de mexicanos. En primer lugar, la incidencia que ellos informan es de 9.5/100,000, mientras que en México es de 2/100,000. Los alelos "P" comunes son DRB1*1601, *1102, DQB1*0301, y el DRB1*1402 (subtipo de *06) que es de origen amerindio; nosotros encontramos al DQB1*0601 prevalente en japoneses, lo que sugiere orígenes orientales diferentes en los haplotipos protectores. Otro rasgo importante es que la hipótesis simple de un solo residuo "S" o "P" no se confirma en esta población, y en cambio surge la contribución de por lo menos tres posiciones: una en DRB1-57/74 y la DQA-52 y DQB-57.

Probablemente la incidencia baja en México, es un reflejo de la presencia de haplotipos fuertemente protectores como el DQB*0301, DRB*1101, *1402 y *1602. El haplotipo más predisponente es de origen español y los protectores parecen ser una contribución oriental, lo cual coincide también con la baja incidencia de DMDI en los orientales.¹⁶ Así pues, los haplotipos "diabetogénicos" en mexicanos, indican que el sitio de reconocimiento del péptido propio que induce la respuesta autoinmune

contra la célula b del páncreas, está configurado por aminoácidos cruciales que se complementan en la intersección de las cadenas DRb y DQ a y b, con secuencias relevantes del péptido y los sitios de las cadenas del TCR que lo unen, formando el complejo trimolecular clase II-péptido-TCR. Estos hallazgos han sido esenciales para esclarecer la relevancia del análisis transracial en la comprensión de la patogénesis de la DMDI, para su posterior aplicación en la medicina molecular.

Conclusiones y perspectivas

Se demuestra la importancia de hacer estudios genéticos en diferentes poblaciones para evaluar con precisión la contribución de los genes del MHC en la etiopatogénesis de la DMDI. Se estableció que los genes DRB1 también confieren un alto riesgo en ciertas poblaciones como la mexicana, lo que indica la contribución poligénica de alelos clase II tanto en la protección como en la susceptibilidad. Los datos apuntan hacia la hipótesis de que las diferencias poblacionales en la incidencia se deben a los genes MHC, más que a los factores ambientales. Por último, el conocimiento de secuencias "P" y "S" que hemos identificado en mexicanos y otros autores en grupos distintos, permitirán en el futuro próximo, diseñar métodos de terapia génica para bloquear la unión del autoantígeno al nicho clase II, evitando a su vez la unión específica al TCR y tal vez impedir la destrucción autoinmune de la célula b. Mas aún, hemos entrado en el terreno de la medicina predictiva, pues con estos datos, al tipificar DRB1, DQA1 y DQB1 se pueden identificar a por lo menos el 75% de los sujetos en riesgo de desarrollar DMDI.

Agradecimientos

Agradecemos sinceramente la colaboración técnica de Mónica Moreno, Víctor Juárez, Arturo Hernández, Gabriela de la Rosa, Héctor Rojas (becario de CONACyT/Cuba). Muchas gracias a La Real Academia de Ciencias de España, al "Fondo Gen 1988" y a *Boehringer Mannheim Biochemica* de Alemania, por su invaluable patrocinio.

El presente trabajo se llevó a cabo con el apoyo financiero del "Premio Fondo Gen. 1988" otorgado al trabajo, con el de La Real Academia de Ciencias de España, como parte del Proyecto: La génesis biológica de las poblaciones hispanoamericanas y con el de *Boehringer Mannheim Biochemica* de Alemania, por su invaluable patrocinio.

Referencias

1. Eisenbarth GS. Type I diabetes *mellitus*. A chronic autoimmune disease. N Eng J Med, 1986, 314:1360-1368.
2. Rubinstein P. HLA and IDDM: Facts and speculations on the disease gene and its mode of inheritance. Human Immunol. 1991, 30:270-277.
3. Rothbard JB, Geffer ML. Interaction between immunogenic peptides and MHC. Ann Rev Immunol 1991, 9:527-566.
4. Insulin dependent diabetes. En: Tiwari JL, Terasaki PI (eds). HLA and Disease Associations. Nueva York, Springer Verlag, 1985.
5. Nepom GT. A new hypothesis for the complex genetics of HLA associations in IDDM. Diabetologia, 1990 33: 1153-1157.
6. Fletcher J, Mijovic C, Odugbesan O, Jenkins D, Bradwell AR, Barnett AH. Transracial studies implicate HLA-DQ as a component of genetic susceptibility to type I diabetes (insulin-dependent) diabetes. Diabetol. 1988, 31:864-870.
7. Bertrams J, Baur MP. Insulin dependent diabetes *mellitus*. En: Albert E, Baur MP, Mayr WR (eds). Histocompatibility Testing 1984, Berlin, Springer Verlag. 1984, 348-358.
8. Bashir H, Uji T, Moffit P. Diabetes *mellitus*: En: Simmons MJ, Tait BD (eds). Proceedings of the 2nd Asia and Oceania Histocompatibility Workshop-Conference Toorak, Immunopublishing, 1983, 332-342.
9. Morel PA, Dorman JS, Todd JA, McDevitt HO, Trucco M. Aspartic acid at position 57 of the HLA-DQ β chain protects against type I diabetes: A family study. Proc Natl Acad Sci USA. 1988, 85:8111-8115.
10. Rooning KS, Sprukland A, Tait BD, Drummond B, Lopez-Larrea C, Gorodezky C, Baranda FS y col. HLA class II associations in insulin-dependent diabetes *mellitus* among Blacks, Caucasians and Japanese. En: Tsuji K, Aizawa M, Sasasuki T(eds) HLA 1991 Vol 1 Oxford, Oxford University Press. 1992, 713-722.
11. Todd JA, Bell JI, McDevitt HP. HLA DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes *mellitus*. Nature 1987, 329:599-604.
12. Jacobs KH, Jenkins D, Mijovic C, Penny M, Uchigata Y, Cavan D, Hirata T y col. An investigation of Japanese subjects maps susceptibility to type I (insulin-dependent) diabetes *mellitus* close to the DQA1 gene. Human Immunol. 1992, 33: 24-28.
13. Mijovic HC, Jenkins D, Jacobs KH, Penny Mx, Fletcher JA, Barnett AH. HLA-DQA1 and DQB1 alleles associated with genetic susceptibility to IDDM in Black population.
14. LaPorte R, Tajima N, Akerblom HK, Berlin N, Brosseau J, Christie M, Drash AL, y col. Geographic differences in the risk of insulin dependent diabetes *mellitus*: the importance of registries. Diab. Care. 1986. 8(suppl 1):101-107.
15. Robles C, Cornejo BJ, Dorantes AL, Gutiérrez GL, Magos LC, Pérez-Pastén E. Incidencia de la diabetes *mellitus* tipo I en el DF y área metropolitana. XXVII Reunión Anual de la Soc Mex. de Endocrinol. Mérida 1987, 3 (resumen).

16. Dorman JS, LaPorte R, Stone R, Trucco M. Worldwide differences in the incidence of type I diabetes are associated with aminoacid variation at position 57 of the HLA-DQb chain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990, 87: 7370-7374.
17. Dorman JS, Serrano Ríos M, Gorodezky C. *Diabetes* 1993, 42:A42(resumen).
18. Harris MI. Classification and diagnostic criteria for diabetes and other categories of glucose intolerance. En: National Diabetes Data Group (eds) *Diabetes in America*, 1984, II-I-II-10.
19. Daniilovs J, Terasaki PI, Park MS, Ayoub G. 8-lymphocyte isolation by thrombin nylon-wool. En: Terasaki PI(ed). *Histocompatibility Testing* 1980. UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles, 1980, 287-288.
20. Hopkins KH. Basic microlymphocytotoxicity. En: Zachary AA, Gary AT. (eds). *ASHI Laboratory Manual*. 2ª Edición, ASHI, Lenexa, Kansas, 1990, 195-201.21. Juji T, Akaza T, Tokunaga K, Miyoshi H, Kashiwase K. The 20 serology studies of the Eleventh International Histocompatibility Workshop. An overview. En: Tsuji K, Aizawa M, Sasasaki T.(eds). *HLA* 1991. Oxford, Oxford University Press, 1992, 83-108.
22. Kimura A, Sasasaki T. The HLA DNA typing technique. En: Tsuji K, Aizawa M, Sasasaki T (eds), *HLA* 1991, Oxford, Oxford University Press, 1992, 397-419.
23. Svejgaard A, Platz P, Ryder LP. HLA and Disease 1982. A survey. *Immunol. Rev.* 1983, 20: 193-217.
24. Morales P, Martínez-Laso J, Martín Villa JM, Corell AJ, Vicario JL, Varela P y col. High frequency of DRB1*0405 (DW15)-DQW8 haplotype in Spaniards and its relationship to diabetes susceptibility. *Human Immunol.* 1991, 32: 170-175.
25. Sanjeevi CV, Zeidler A, Shaw S, Rotter GT, Nepom G, Costin L y col. Analysis of HLA-DQA1 and DQB1 genes in Mexican-Americans with insulin-dependent diabetes *mellitus*. 1993, 42:72-77.
26. Erlich HA, Zeidler A, Chang J, Shaw S, Raffel LJ, Klitz W, B y col. HLA class II alleles and susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes *mellitus* in Mexican-American families. *Nature Genetics*. 1993, 3: 358-364.

Comentario

Aquilés R. Ayala*

El complejo principal de histocompatibilidad o MHC (*Major Histocompatibility Complex*), es la región genética más importante para determinar el tipo de tejido adecuado para trasplantes. En humanos MHC ha sido denominado complejo HLA (*human leukocyte antigen*). El complejo HLA se halla compuesto de varios *locus* (sitio específico de un gen en un cromosoma) genéticos estrechamente relacionados y contenidos en el brazo corto del cromosoma 6. Estos *locus* se dividen en tres grandes grupos:

- A) los de clase I (HLA - A, B, C), cuya función es reconocer antígenos extraños por linfocitos T citotóxicos; (estos antígenos de la clase I son de especial importancia en el rechazo de tejidos);
- B) los *locus* de la clase II incluyen HLA-DR, HLA-DP, y HLA-DQ encargados de reconocer antígenos extraños por Linfocitos T auxiliares y

C) los *locus* de la clase III que codifican para algunos componentes de la cascada de complemento. La mayoría de *locus* HLA clases I y II son altamente polimórficos.

La diabetes *mellitus* afecta aproximadamente 5% de la población y existen diferentes contribuciones genéticas para desarrollar la forma dependiente de insulina (Diabetes *mellitus* tipo I), como es la asociación de antígenos HLA-DR3 y HLA-DR4 detectada en el 95% de pacientes con diabetes dependiente de insulina contra un 50% de hallazgo en la población general. Así, el riesgo de padecer la enfermedad por un familiar de primer grado de un diabético dependiente de insulina es del 10%. En vista de que los subgrupos HLA-DR3 y HLA-DR4 pueden identificarse rápidamente por análisis molecular, ha sido posible refinar el nivel de predicción. Esto se basa en la hipótesis de que los genes estrechamente ligados a estos antígenos,

* Académico numerario. Endocrinólogo; Director de Investigación y Enseñanza. Hospital Juárez de México, SSA, México, D.F.

controlan la respuesta inmune, lo que puede hacer a una persona susceptible a elementos ambientales, tal es el caso de los virus, que dan como resultado daño pancreático y por consecuencia diabetes *mellitus*. Estos pacientes pueden formar anticuerpos anti-insulina y contra los islotes de Langerhans, lo que hace requieran de insulina. En la actualidad, es posible identificar a personas con riesgo de presentar diabetes *mellitus* juvenil merced al empleo combinado de marcadores inmunes, serológicos y moleculares.

Este trabajo tiene la virtud de haber resuelto 2 de los 5 criterios internacionalmente aceptados¹ para prevenir la enfermedad: 1.- "conocimiento del tipo de proceso morboso, aunque no se establezca la causa", es decir, la diabetes *mellitus* dependiente de insulina y 2.- "identificación del grupo de riesgo"; el caso de mestizos mexicanos estudiados con antígenos DR3, DR4, DQ2 y DQ8 presentes que contribuían a la susceptibilidad, demostrándose además que los genes DRB1 confieren un alto riesgo en la población mexicana. Los datos obtenidos permitieron atribuir además a los genes MHC, las diferencias registradas en el número de casos observados entre poblaciones, más que a la influencia de factores ambientales (virus); en apoyo de esto último se tiene la observación de que ciertos virus protegen en vez de atacar a individuos susceptibles de desarrollar diabetes autoinmune.² Los tres criterios restantes se ven satisfechos parcialmente o insolutos por el momento. Así, ante el tercer criterio de que "la fase de preaparición (tiempo entre el inicio del proceso y el inicio de la enfermedad) debe ser lo suficientemente larga como para proveer de un tiempo diagnóstico y terapéutico", se ha visto cumplido en parte, por la

conformación de pruebas dinámicas (curva de tolerancia a la glucosa) en clínica y la documentación de rasgos fenotípicos (obesidad, hiperinsulinismo y acantosis), pero sin solución definitiva en cuanto al tiempo de desarrollo de la enfermedad, máxime en la diabetes dependiente de insulina, lo que parece podrá aclararse vía el estudio de MHC en poblaciones. Algo similar puede decirse respecto al cuarto criterio en que "debe contarse con pruebas clínicas que diagnostiquen o permitan el rastreo del proceso destructivo en fase de premanifestación", y en tanto estos aspectos no sean mejor aclarados, tampoco se podrá solventar el quinto y último criterio, en el que se dice: "debe existir una intervención efectiva con una baja relación de riesgo contra beneficio".

El esfuerzo plasmado por la doctora Clara Gorodezky y su grupo en el presente trabajo, se suma a muchos otros realizados por ella misma en el campo de la inmunogenética en México, cuyo carácter único la ha distinguido internacionalmente, y por lo mismo, justificado su ingreso a nuestra noble Corporación. Al darle mi más entusiasta bienvenida, abrigo la idea también de que contaremos con una investigadora auténtica para vigorizar nuestra *paideia* médica nacional.

Referencias

1. Bougneres PT, Carel JC, Castino L. Factors associated with early remission of Type I diabetes in children treated with cyclosporine. *N Engl J Med* 1988; 318: 663-670.
2. Leiter EL, Fewell JW, Kuff EL. Glucose induces Type A retroviral gene transcription and translation in pancreatic beta cells. *J Exp Med* 1986; 163: 87-100.