

Secuencias moleculares de alto y bajo riesgo en enfermedades autoinmunes. Un análisis de la diabetes tipo I en Latinoamérica

Clara Gorodezky,* Angélica Olivo,* Carmen Alaez,* MN. Vázquez,* Gabriela de la Rosa,* Héctor Debaz* Carlos Robles,** Nelly Altamirano,** Z. Layrisse,*** PL. Balducci,*** E. Domínguez,*** F. Herrera,*** S. Montagnani,*** B. Esparza,*** O. Balbas,*** P. Gunczler,**** R. Lanes,**** R. Amaro,***** R. Zaro,***** V. Fuenmayor,***** F. Montoya,***** Cl. Bedoya,***** MC. Restrepo,***** A. Villegas,***** S. Posada,***** Hl. García,***** JL. Vicario*****

Resumen

La diabetes tipo I es una enfermedad autoinmune, poligénica con una contribución del 48 % de los genes MHC Case II. El objeto de este trabajo es proveer una explicación para las asociaciones moleculares de dichos genes, mediante el análisis de la inmunogenética de 3 poblaciones mestizas de Latinoamérica. Se estudiaron un total de 606 individuos, 349 pacientes con DMDI y 257 sujetos sanos de tres localidades México DF, Caracas, Venezuela, Medellín, Colombia. Los resultados indican que en los grupos mestizos, los haplotipos diabetogénicos son de contribución mediterránea y que la mayoría de los haplotipos de protección son de origen indígena. Se demostró que las secuencias relevantes en la expresión de la respuesta están en los loci DRB1 y DQB1, con un aporte mínimo de DQA1 y que las secuencias relevantes en el reconocimiento del péptido y en la inducción de las células Th1 mediadoras de la activación de la respuesta celular, están localizadas en DRB1-57 y 74 (la presencia de ac. aspártico y ac. glutámico confieren resistencia), moduladas por la presencia de D-57 en DQp del antígeno DQ. Estos datos demuestran la participación de DRB1-DQB1 en la enfermedad y abren caminos para un nuevo manejo de la DMDI.

Palabras Clave: Autoinmunidad Loci DRB1, DQA1, DQB1, péptidos diabetogénicos, secuencias de susceptibilidad y protección; nicho del MHC.

Summary

Type I diabetes is an autoimmune and a polygenic disease, in which MHC-class II genes contribute to 48% of the disease. The aim of the present study, is to provide a guideline to understanding the molecular association of these genes, through the immunogenetic analysis of 3 Latinamerican mestizo populations. We included 606 individuals, 349 patients with DMDI and 257 healthy controls coming from 3 geographical areas: Mexico City, Mexico; Caracas, Venezuela and Medellin, Colombia. The results clearly indicate that in mestizo groups, the diabetogenic haplotypes are from mediterranean ancestry, while protection is due to Amerindian genes. It was demonstrated that the relevant sequences for IDDM expression are located to DRB1 and DQB1 loci with a minimal contribution of DQA1 residues. The sequences determining peptide recognition and the induction of TH1 cells mediating the cellular autoimmune response are in positions DRB1-57 and 74 (an aspartic acid and a glutamic acid respectively, confer protection), modulated by D-57 in the DQ_p chain. These data show that DRB1-DQB1 haplotypes are central for IDDM expression and open new pathways for the disease management.

Key words: Autoimmunity, DRB1, DQB1 Loci, genetic Susceptibility.

* Departamento de Inmunogenética, INDRE, SSA. ** Unidad de Crecimiento y Desarrollo, Instituto Nacional de Pediatría, SSA. MEXICO D.F., MEXICO, Programa de Biomedicina Molecular, CINVESTAV, IPN. *** Laboratorio de Fisiopatología, Centro de Medicina Experimental, IVIC. **** Unidad de Endocrinología, Pediatría, Hospital de Clínicas. ***** Hospital Miguel Pérez Carreño. ***** Hospital José Gregorio Hernández. CARACAS, VENEZUELA. ***** Laboratorio de Inmunología, Corporación de Investigaciones Biológicas (CIB). ***** Corporación Antioqueña de Diabetes. ***** Instituto Colombiano de Medicina Tropical, MEDELLÍN, COLOMBIA. ***** Centro de la Transfusión, MADRID; ESPAÑA Correspondencia y solicitud de sobretiros: Dra. Clara Gorodezky. Jefe del Departamento de Inmunogenética, INDRE, SSA Carpio # 470-1er piso, México D. F., 11340. MEXICO. Tel 341-4569; 341-4953 ext 54 Fax: 538-1884 E-mail: cgorodeaUmailer.main.conacyt.mx

Introducción

El MHC (complejo principal de histocompatibilidad) en el humano, denominado complejo HLA, cuyos genes se localizan en el brazo corto del cromosoma # 6, fue inicialmente caracterizado con aloantisueros que identificaban los antígenos expresados en la superficie de todas las células nucleadas. Si bien se caracterizaron los antígenos HLA con fines de trasplante, el descubrimiento de los genes de respuesta inmune¹ y los primeros hallazgos de genes asociados en enfermedades tumorales,² estimularon la investigación del MHC en un sinnúmero de oocimientos. Las primeras asociaciones se informaron en el lupus eritematoso sistémico (LES), la espondilitis anquilosante (EA), la esclerosis múltiple (EM) y la diabetes tipo I (DMDI), y en 1985, Tiwari y Terasaki,³ recabaron la información publicada en el mundo para más de 300 entidades clínicas. En los últimos 20 años se han demostrado una diversidad de padecimientos parcialmente determinados por genes HLA, se ha confirmado la segregación de haplotipos particulares con enfermedades específicas mediante análisis familiares y se han caracterizado nuevos genes dentro de las 4000 Kb que ocupa el complejo HLÁ. La descripción de la estructura cristalográfica de las moléculas HLA clase I y clase II,^{4,5} y de la enorme diversidad alélica⁶ y el conocimiento de la función de la mayoría de los genes del MHC,⁷ combinado con la capacidad de manipulación molecular in vitro y la oportunidad de aplicar la metodología molecular para localizar las secuencias exactas involucradas en la etiopatogénesis de las enfermedades, ha permitido la comprensión de los mecanismos moleculares en algunas patologías autoinmunes.

Dichas enfermedades tienen patrones complejos de herencia y, para entender los mecanismos moleculares-HLA, es importante puntualizar sus características centrales.⁸

1. La destrucción autoinmune del órgano o tejido blanco se debe fundamentalmente a mecanismos inmunológicos celulares, sin que esté claro si esto es causa o consecuencia.
2. Los factores ambientales, entre los que se cuentan a los patógenos virales y bacterianos, medicamentos y factores ocupacionales o de estilo de vida, juegan un papel crítico en su desencadenamiento.

3. La susceptibilidad es poligénica. La concordancia en gemelos monocigóticos va del 15 al 50% dependiendo de la enfermedad. Los hallazgos del rastreo de genes a lo largo de todo el genoma han demostrado, sin duda, que para la DMDI existen por lo menos 9 genes que segregan concordantemente con la enfermedad y que se localizan en distintos cromosomas, de los cuales, los clase II del MHC contribuyen en casi un 50% a la etiología.⁹
4. La susceptibilidad está gobernada por más de un gen dentro del MHC. El LES es un buen ejemplo, pues los alelos DRB1*1501 del DR2 y *0301 del DR3 participan, además de los alelos nulos de C2 y C4 y el TNF- α . Más aún, la síntesis de los autoanticuerpos está bajo el control de diferentes genes DQ específicos para cada autoanticuerpo.¹⁰
5. El suceso iniciador de la autoinmunidad y el autoantígeno "blanco" se desconocen en la mayoría de las enfermedades. En la miastenia grave, enfermedad de Graves y la EM, están ya identificados los péptidos "blanco" y hay grandes avances en la DMDI, la EA y la artritis reumatoidea (AR). Cuando esto esté claro, podrá analizarse el papel que juegan los clase I y II y otros genes en la patogénesis, para recurrir a estrategias de manejo molecular con fines preventivos y tratamiento.¹¹

La organización genética de la región HLA en el brazo corto del cromosoma 6 incluye a los loci clase I, II y III. La región de clase I abarca 17 genes, de los cuales sólo se transcriben 16 productos. Codifica para los antígenos clásicos HLA-A, B y C cuya función central, pero no exclusiva, es presentar péptidos endógenos (por vía citosólica) y exógenos (por vías no convencionales) a los TCRs de los linfocitos T citotóxicos, cuya función en protección es eliminar células infectadas o tumorales. Los no clásicos HLA-E, F, G y X controlan la síntesis de antígenos de diferenciación involucrados en la maduración y el mantenimiento del feto intraútero.¹² Las clase I clásicas son extraordinariamente polimórficas y la diversidad en los dominios externos α 1 y α 2 de la cadena pesada son responsables de la unión de los péptidos al nicho clase I. La región de clase II comprende 1000 Kb e incluye a los loci DRB1-DRB9; DQA1 y DQA2; DQB1 y DQB2; DPA1 y DPB2 y los loci

responsables del procesamiento y transporte de péptidos LMP2 y LMP7, TAP1 y TAP2, DMA y DMB, DNA y DOB.⁶ Las moléculas DR, DQ y DP también son muy polimórficas y en general los dominios β 1 de las cadenas β son los de mayor variabilidad. La cadena α permanece constante en los heterodímeros DR, pero tiene cierta diversidad en DQ α y menos en DP α . La función central de los antígenos de clase II es, además de la discriminación de lo propio y de lo extraño, igual que los clase I, la de inducir y regular respuestas mediadas por los Th1 y Th2 al presentarle a sus TCR los péptidos procesados en los distintos endosomas de las células presentadoras de antígeno.¹³

Los mecanismos moleculares de asociación en la autoinmunidad incluyen: A. La ruptura de la tolerancia a lo propio por elementos genéticos y ambientales. La tolerancia se alcanza por mecanismos que incluyen la anergia y delección clonal o selección negativa de B, Th y Tcit. Los factores desencadenantes dan acceso al aparato inmunocompetente a los antígenos normalmente secuestrados, que cuando se unen al alelo adecuado pueden iniciar el ataque autoinmune.¹⁴ B. El mimetismo molecular explicado por la reactividad cruzada entre secuencias HLA o de otro autoantígeno con porciones de algún agente exógeno o endógeno.¹⁵ C. Otra posibilidad es que el verdadero gen de susceptibilidad se localiza cerca de los genes asociados, como es el caso de la hiperplasia suprarrenal congénita, que se debe a una delección en el gen funcional CyP-21 B¹⁶ y no a los clase I que se hallan asociados a esta enfermedad.

El análisis detallado del DNA y de las asociaciones HLA con la DMDI (diabetes tipo 1) ha permitido la definición precisa de los alelos de susceptibilidad/protección en poblaciones de distinto origen étnico y han demostrado la participación de residuos en DQA, DQB y DRB, alelos o combinaciones alélicas que juegan un papel central en la expresión de la DMDI.^{17,18,19} Estos trabajos y muchos otros, revisados en los que aquí se citan, así como en los publicados por nosotros,^{17,20,21} han demostrado en forma inequívoca que hay dos dímeros DQ en posición cis que confieren susceptibilidad. El DQA1*0301-DQB1*0302 que está codificado en los haplotipos DR4 en todas las poblaciones y en los DR8 en japoneses y el DQA1*0301-

DQB1*0201 presente en el haplotipo DR4 de los griegos y en cerdeños,²² presentes en DR7 y DR9²³ de los negros. Algunos DQs como el DQB1*0602, confieren una protección dominante y otros van desde neutros hasta protectores. Ciertos genotipos heterocigóticos confieren una mayor susceptibilidad que los homocigóticos y el efecto sinérgico más potente se ha observado en los haplotipos DR3/DR4, DR3/DR9 en Chinos y en negros, así como DR1/DR4, DR4/DR8 en algunos grupos caucásicos. El haplotipo DR3 está codificado en la combinación DQA1*0501-DQB1*0201 (revisado en 19). Ahora es indudable la contribución de los 3 loci y en cuanto al DR, es evidente que la variación étnica es central. Como ejemplo, en alemanes y portugueses hay subtipos del DR4 que confieren susceptibilidad (*0405, *0402 y *0401) y otros participan en resistencia (*0406, *0403).^{24,25} En cambio, en distintos grupos españoles se observa que la contribución genética en el norte de España es similar a la del norte y centro de Europa, la cual es distinta a la descrita en los mediterráneos.^{17,22,25,26}

La heterogeneidad genética de los distintos grupos raciales y la contribución de alelos diversos, pero que comparten secuencias precisas idénticas, que son relevantes para la enfermedad, nos llevó a emprender la tarea de analizar el patrón inmunogenético en varias poblaciones hispanoamericanas, para conocer si la genética de la DMDI tiene rasgos diferentes a los de otros grupos y para rastrear los orígenes ancestrales de los genes tanto de susceptibilidad como de protección así como investigar el peso específico de los genes involucrados en el contexto de su ascendencia. Se incorporaron pues, cuatro grupos mestizos: uno de mexicanos, dos grupos de venezolanos y uno de colombianos, cuyas características se describen en la sección de Métodos.

Material y métodos

Características de las Poblaciones.

Se incluyeron un total de 606 sujetos de 3 laboratorios latinoamericanos; 349 individuos sanos y 257 pacientes con diabetes tipo I, provenientes de México, Colombia y Venezuela.

1. **Mestizos mexicanos.** Se incluyeron 174 sujetos sanos y 137 pacientes con DMDI de la Unidad de Crecimiento y Desarrollo del Instituto Nacional de Pediatría. La mayoría originarios del DF (64% de los pacientes vs 52% de los sanos) y el resto proviene del Edo de México, Jalisco, Hidalgo y del 24 al 29% de otros estados). La edad de inicio fue de $X=8.6\pm 4$ años y el tiempo de evolución $X=3.3\pm 3.2$ años. El 52.5% de los pacientes fue de mujeres vs 41.9% de los sanos. Algunos datos han sido publicados.^{17,20,21}
2. **Mestizos de Colombia.** Se analizaron 26 diabéticos de la consulta de la Corporación antioqueña de diabetes de Medellín, Colombia. Los testigos incluyeron a 56 sujetos sanos. Todos ellos residentes de Medellín. La edad de inicio de los pacientes fue de $X=13.0\pm 18.0$ años y el tiempo de evolución de $X=2.0\pm 12$ años. De los pacientes, 54.0% eran femeninas y así como 46.0% de los sanos.²¹
3. **Mestizos de Venezuela.** Del Laboratorio de Fisiopatología del IVIC en Caracas, se incluyeron 42 pacientes de la Unidad de Endocrinología del Hospital de Clínicas, del JG Hernández y del M. Pérez Carreño, cuyos resultados han sido parcialmente publicados o ~. La edad de inicio fue de $X=12.0\pm 8.9$ años y el tiempo de evolución $X=6.7\pm 8.0$ años, con 49.0% de mujeres con DMDI y 51.0% de mujeres sanas.

Tipificación molecular de los loci *DRB1*, *DQA1* y *DQB1* mediante la técnica de PCR-SSO.

Se usaron los protocolos, iniciadores y sondas diseñadas para el XII Taller Internacional de Histocompatibilidad.²⁸ El DNA se extrajo de leucocitos de sangre periférica con fenol-cloroformo-alcohol isoamílico, después de un tratamiento con amortiguador de lisis de eritrocitos y proteinasa K. Para la amplificación se usaron 2.5 u de Taq-polimerasa (Boehringer Mannheim Biochemica, Alemania). Los iniciadores amplifican el segundo exón de los genes de todos los loci. Para *DRB1* se usaron amplificaciones genéricas (de locus) y de grupo (DRI, DR2, DR4 y DR52 asociados). Los productos de PCR se sembraron en membranas

de nylon en un formato de manchas. Las sondas se marcaron con dig-ddUTP (digoxigenina-trifosfato de didesoxi-uridina) y desoxinucleotidiltransferasa. Se hibridaron las membranas y después de lavarse a la Tm de cada sonda se incubaron con anti-dig conjugado a fosfatasa alcalina. Las membranas se expusieron a una película de rayos X, después de su reacción con el sustrato AMPPD (3-2'-spiroadamtano-4-metoxil-3-fosforiloxi-fenel-1-2). Esta quimioluminiscencia se efectuó con reactivos y protocolos de Boehringer Mannheim Biochemica (Alemania).

Resultados

En el cuadro I se muestran las frecuencias de los alelos *DRB1*, *DQA1* y *DQB1* involucrados en la enfermedad en los tres grupos analizados: En el cuadro II se esquematizan los haplotipos diabéticos que muestran un efecto de susceptibilidad para la enfermedad, en las poblaciones estudiadas. Por último, en el cuadro III, se señalan los posibles haplotipos diabéticos *DRB1*-*DQA1*-*DQB1* que pueden estar en cis o en trans y que confieren protección o son neutros, por lo que son los de menor riesgo para la expresión de la DMDI en las poblaciones mestizas de América.

Discusión y conclusiones

Los hallazgos en estas poblaciones latino-americanas son una nueva contribución para la comprensión de los mecanismos genéticos de etiopatogénesis de la DMDI. De hecho, los resultados en muchos grupos caucasoides indican sin duda alguna una asociación dramática con DR3 y DR4 y con los asociados DQ2 y DQ8 que confieren un riesgo incrementado para desarrollar la DMDI,³ particularmente alto en los heterocigotos, de modo que los haplotipos DR3-DQ2/DR4-DQ8 se consideran genotipos de alto riesgo, mientras que los DQ2-DQ2 y DQ8-DQ8 confieren un riesgo moderado." Por otro lado, se ha sugerido, también en caucasoides, que cuando los haplotipos protectores o "neutros" están en combinación con DR3-DQ2 o DR4-DQ8, el riesgo de expresar la enfermedad es bajo.^{17,19} Los antígenos mencio-

Cuadro I. Alelos DRB1, DQA1 y DQB1 de susceptibilidad/protección en la DMDI en poblaciones latinoamericanas¹

LOCI	MEXICO <i>Gorodezky y col</i>				VENEZUELA <i>Layrisse y col</i>				COLOMBIA <i>Montoya y col</i>	
	pc	RR	FE	FP	pc	RR	FE	FP	pc	RR
DRB1										
*0301 (S)	<0.0004	21.4	0.49		0.0003	6.6	0.34		0.002	6.0
*0401 (S)	NS	24.8	0.11		NS	3.5	0.42		NS	0.7
*0404 (S)	0.03	27.8	0.13		NS	1.4	0.01			NS
*0405 (S)	0.001	44.5	0.2		0.003	28.9	0.19		0.0001	61.3
1 101/4 (P)	0.02	0.23	--	0.12	NS	0.22	--	0.18		NS
*1602 (P)	0.01	0.03	--	0	NS	0.24	--	0.06		NS
DQA1										
*03011+0302 (S)	<0.0001	10.7	0.84		0.0002	4.1	0.49		0.01	1.8
*0104 (P)	0.02	0.2	--	0.06		NS			ND	
DQB1										
*0201 (S)	<0.0001	6.5	0.44		0.0001	4.4	0.48		NS	1.3
*0302 (S)	<0.0001	10.0	0.70		0.001	3.1	0.33		NS	1.6
*0501 (P)	NS	0.39	--	0.11	NS	0.73	--	0.09	0.002	0.08
*0301 (P)	<0.0001	0.1	--	0.50	0.0001	0.20	--	0.46		NS

pc=probabilidad corregida; RR=riesgo relativo; FE=fracción etiológica; FP=fracción preventiva; ND=no determinado

nados también son mediadores de un riesgo muy alto en las poblaciones latinoamericanas incluidas aquí, y los heterocigotos DR3/DR4 son genotipos de muy alto riesgo en los 3 grupos mestizos con riesgos relativos que oscilan entre 12 y 15. Es indudable que el análisis serológico no discrimina las diferencias inter-étnicas, pues los hallazgos serológicos de este estudio multicéntrico (que no semuestranaquí), son similares a los de caucásicos y de ellos se concluiría, con sólo la definición serológica, que los genes diabetogénicos son de origen blanco, sin poder precisar de que grupo racial. Así pues, con las técnicas convencionales que ofrecen una baja resolución, no es posible distinguir los 22 subtipos del DR4, los 22 del DR11, etc., por lo que es imposible saber si el DR4 de un individuo, o cualquier otra variante es de protección o de susceptibilidad. En este sentido es importante hacer notar, que hay 3 haplotipos consistentemente elevados en la DMDI en caucásicos: A1 B8-DR3; A30-B18-DR3 y A2-B62-DR4. Recientemente se ha demostrado que el A30 B18-DR3 sólo aparece en niños que inician la enfermedad antes de los 7 años, pero sí no se toma en

cuenta el locus A, la combinación B18/DR3 se presenta en pacientes con un inicio a cualquier edad.²⁹ Esto muestra la necesidad de considerar todos los parámetros posibles para de mostrar la predisposición genética en relación a la heterogeneidad.

Las poblaciones de este trabajo son mestizas y en la muestra de México y de Venezuela la mayoría de los sujetos son originarios de las zonas aledañas a las ciudades principales, lo que sugeriría que los factores ambientales involucrados, deben estar relacionados con la urbanización y el desarrollo. La edad de inicio y la distribución de la enfermedad por sexos es similar en todos los grupos, y la edad de inicio fue anterior a los 20 años en la mayoría de los casos, criterio para considerar a la diabetes como juvenil que no difiere de los hallazgos en otros grupos étnicos.

El análisis molecular refleja aspectos muy interesantes. En primer término es importante señalar que a diferencia de las poblaciones caucásicas del norte de Europa, el locus DRB1 juega un papel central tanto en la protección como en la susceptibilidad. Hay una clara contribución en la suscep-

tibilidad, de los alelos DRB1*0301 y *0405 en los tres grupos (Cuadro 1), además del *0404 en mexicanos. Estas asociaciones ya habían sido sugeridas en mexicanos durante el Taller Internacional de 1991 por nuestro grupo (datos incluidos en 17) y publicadas independientemente.^{20,21} Los mismos hallazgos fueron informados por Erlich y col. en pacientes mexicano-americanos, residentes de California.³⁰ También hay aquí algunos alelos DRB1 de protección, especialmente en mexicanos, como son el DRB1*1101 de origen español y el *1602 de origen indígena, los cuales coinciden con lo informado en los mexicanos de EUA.³⁰ Ni en Venezuela ni en Colombia alcanzan significancia estadística, lo que puede reflejar ya sea un diferente grado de mestizaje, una exposición variable a factores ambientales desencadenantes o, en el caso de Colombia, que el tamaño de la muestra sea muy pequeño. Si bien es cierto que los loci DQA1 y DQB1 también son importantes en la expresión de la DMDI en los mestizos, la presencia de alelos de susceptibilidad R+ en DQA1 está dada fundamentalmente por el *0301110302 que se hallan en los haplotipos portadores de los subtipos del DR4 y al DQB1*0302 que no lleva D en la posición 57 y que es el alelo más común en los haplotipos DR4 en mestizos. Los cuadros II y III muestran los haplotipos que confieren susceptibilidad y los involucrados en protección y es definitivo que la sola presencia de alelos R1 y D- no es suficiente, pues *03011/0302-DQB1*0302 está presente en los dos primeros haplotipos protectores que llevan al DRB1*0403, *0407 y *0411. Estos son los más frecuentes en poblaciones indígenas como los Baris, Lacandones, Waraos y otros amerindios independientemente del alelo DRB1 que vaya con la combinación y sin embargo los indios no desarrollan DMDI.³¹ Así, los haplotipos

de susceptibilidad son los que contienen al *0301, *0405, *0404 y *0401, tanto en México como en Venezuela. Este hallazgo demuestra que las secuencias relevantes de la cadena DRB1, en la unión del péptido diabetogénico son las posiciones 57, 74 y 86, con residuos ácidos o no polares como determinantes de la resistencia. Por último en el Cuadro III se muestra la contribución evidente del locus DRB1. Además, la mayoría de los haplotipos DRB1 protectores o neutros tienen un origen ancestral indígena o mongoloide demostrado por los subtipos del DR4 señalados y las variantes *1602, *1402 y *0802. Por el contrario, los alelos de susceptibilidad, son claramente de origen mediterráneo. Más aún, parece ser de mayor relevancia la combinación de DRB1 con DQB1 que la presencia o ausencia de R en los alelos DQA1, pues de los 9 haplotipos protectores o neutros, 6 son R+, es decir, de riesgo elevado en otras razas, mientras que en DQB1, 6 contienen el D de protección. Las secuencias cruciales para la protección en DRB1 son D47 y E-74. La existencia de residuos no-polares en 86 parece influir en la unión del péptido diabetogénico, como se demostró mediante los elegantes estudios de cristalografía.³² En diabéticos de Cerdeña, el sitio con mayor prevalencia de DMDI en el mundo, se demostró la importancia del alelo que adquiere discute y la influencia tan potente que tiene DRB1 en la expresión del padecimiento. Los autores enfatizan que el riesgo absoluto se afecta enormemente tomando en cuenta estos MHC. Así, sólo 1/760 que portan los haplotipos DRB1*0403-DQA1*03-DQB1*0302/DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201 desarrollarán DMDI entre los 0 y 18 años comparado con 1 de 29 que lleven el genotipo DRB1*0405-DQA1*03-DQB1*0302/DRB1*0301-DQA1*0501-DQB1*0201. De igual modo sólo 1/625 portadores del genotipo

Cuadro II. Haplotipos de alto riesgo para la DMDI en mestizos latinoamericanos

DRB1	DQA1	DQB1	MÉXICO Pac/Sanos %	VENEZUELA ² Pac/Sanos %	COLOMBIA ³ Pac/Sanos %
*0301	*0501	*0201	51.4/6.3	40.4/9.4	50.0/12.5
*0405	*03011+0302	*0302	20/3.5	13.8/0	53.8/0
*0404	*03011+0302	*0302	13.0/10	2.05/1.05	ND
*0401	*03011+0302	*0302	7.8/0.7	6.6/0	7.6/10.7

¹Gorodetzky y col; ²Layrissey y col; ³Montoya y col

Cuadro III. Haplotipos protectores/neutros en la DMDI en mestizos latinoamericanos

QDB1-57/ DQA1-52	DRB1	DQA1	QDB1	MEXICO Gorodezky y col	VENEZUELA Layrissey y col	COLOMBIA Montoya y col
R+/D-	*04031/07	*0301	*0302	Protector	Protector	ND
R+/D-	*0411	*0301	*0302	Neutro	Neutro	ND
R-/D+	*1501	*0102	*0602	Protector	Protector	Protector
R+/D+	*1602	*0501	*0301	Protector	?	?
R+/D+	*1402	*0501	*0301	Protector	?	?
R+/D+	*1101	*0501	*0301	Protector	Protector	Protector
R-/D+	*1303	*0103	*0603	Neutro	Protector	?
R+/D+	*0802	*0401	*0402	Neutro	Neutro	Neutro
R-/D-	*0701	*0201	*0201	Protector	Protector	Protector

Los alelos DRB1 tienen ya sea D en posición 57; ó E en posición 74
D = Acido aspártico; E = Acido glutámico

DRB1*0405DQA1*0501-QDB1*0301/DRB1*0301-DQA1*0501-QDB1*0201 manifestarán DMDI.²² Estos hallazgos reflejan la importancia de DRB1 y QDB1 en su expresión, en grupos con componente mediterráneo, pues en los tres genotipos, hay RI en DQA1, pero en el segundo caso los QDB1 son D- y en el tercero hay D I en uno de los QDB1. Por otro lado, sólo en el primer caso uno de los DRB1 (*0403) es de protección y los riesgos absolutos del primero y último genotipos son de 0.0013, mientras que en el segundo es muy alto: 0.034. Estos resultados y los de este trabajo, hacen indispensable la inclusión del locus DRB1 en los cálculos de riesgos absolutos en las diferentes poblaciones.

El análisis profundo de las poblaciones humanas diversas, que tienen aportes variables de genes de distintos orígenes ancestrales, es central para entender los mecanismos de padecimientos crónico-degenerativos con un componente auto-inmune y una etiología desconocida. El efecto de los alelos en resistencia/susceptibilidad no es solamente a nivel del reconocimiento de péptido diabético, sino en la inducción de respuestas celulares tipo Th1 o humoral tipo Th2, siendo las primeras determinantes de la patogenia autoinmune. El objetivo final es aplicar una medicina más racional y llegar a la medicina predictiva en el contexto del análisis molecular de los marcadores genéticos, para identificar sujetos en riesgo muy tempranamente.

Agradecimientos

Les damos las gracias sinceras a La Real Academia de Ciencias de España y a La Consejería de Salud de La Ciudad de Madrid, por haber auspiciado a realizac on de proyecto A los profesores Ange Mart n Mun cio Pres onte de la Academia y Peoro García Barreno Secre tar o de la misma, así como al doctor José Luis Vicario, del Centro de la Transfus ion en Madrid por su va oso apoyo al o al g o de desarrollo de la obra o A as agenc as financ iadoras en cada pa s (Fondo Gen Con cit, Funoac on Z...ma qe y CDCH JCV) A B o h e r i n g h e r M a n n h e i m B i o c h e m c a Co., Alemania y One Lambda Inc. EUA. Este trabajo se evó a cabo con apoyo financ iero de La Real Academia de Ciencias Exactas F sicas y Naturales de España y La Consejería de Salud de la Comunidad de Madrid, en España. B o h e r i n g h e r M a n n h e i m Biochemica, Co. Alemania y One Lambda, Inc. Los Angeles, CA, EUA.

Referencias

1. McDewitt HO, Tyas ML. Genetic control of the antibody response in inbred mice. Transfer of response by spleen cells and linkage to the major histocompatibility (H-2) locus. *J Exp Med.* 1968; 128:1-15.
2. Lilly F, Boyse EA, Old LJ. Genetic basis of susceptibility to viral leukaemogenesis. *Lancet.* 1964; 2:1207-12.
3. Tiwari J L, Terasaki P I. HLA and disease associations. Springer-Verlag, Nueva York, 1985.
4. Bjorkman PJ, Saper MA, Smaroui B, Nennet WS, Strominger JL, Wiley DC. Structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-A2. *Nature.* 1987; 329:506-512.
5. Brown JH, Jardetzky AS, Gorga JC, Stern W, Urban RG, Strominger JL, Wiley DC. Tridimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA DR1. *Nature* 1993; 364:33-39.
6. Bodmer JG, Marsh SGE, Albert DE, Bodmer WF, Bontrop RE, Charron D, Dupont B, Erlich HA, y co. Nomenclature for factors of the HLA system, 1995. *Tissue Antigens.* 1995; 46:1-18

7. Rammensee **HG**, Monaco J. Antigen recognition. *Current opinion in Immunol.* 1994;6: 1- 72.
8. Heard **R.HLA** and autoimmune disease. En: *HLA and Disease*. Lechler R (Ed). Academic Press, New York, 1994 pp.123-151.
9. **Davies** JL, Kawaguchi Y, Bennett ST y col. A genome wide search for human type I diabetes susceptibility genes. *Nature*. 1994; 371:130-136.
10. Amett FC. Genetic aspects of human lupus. *Clin. Immunol Immunopathol.* 1992; 63: 4-20.
11. Fugger L, Tisch R, Libau R, van Endert P, **McDevitt** H. The role of human major histocompatibility complex (HLA) genes in disease. En: *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS (Eds.) Vol.1. McGraw-Hill. Inc. Nueva York. 1995, pp. 555-587.
12. Brodsky F, Lem L, Bresnahan P. Antigen processing and presentation. *Tissue Antigens* 1996; 47:464-471.
13. Mach B, Stemie V, Martinez-Soria E, Reith W. Regulation of MHC class II genes. *Ann. Rev Immunol.* 1998; 14:301-332.
14. **Sinha** AA, López MT, McDevitt HO. Autoimmune diseases: the failure of self tolerance. *Science*. 1990; 248: 1380- 84.
15. Lechler R. Mechanisms of HLA and Disease Associations. En: *HLA and Disease*. Lechler R (Ed). Academic Press. New York, 1994, pp 83-92.
16. White PC, New MI, Dupont B. Congenital adrenal hyperplasia. *N. Eng J Med.* 1987; 316:1519-1524.
17. Rooning KS, Spurkland A, Tait B, **Drummond** B, López-Larrea C, Gorodezky C, Debaz H, Robles C, y col. HLA class II associations in insulin dependent diabetes mellitus among Blacks, Caucasoids and Japanese. En: *HLA 1991*. K Tsuji, M Aizawa, T Sasasuki (Eds.) Vol 1. Oxford University Press. Oxford, 1992. pp. 713-722.
18. Thorsby E, Rooning KS. Particular HLA-DQ molecules play a dominant role in determining susceptibility or resistance to type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1993; 36:371 -377.
19. She JX. Susceptibility to type I diabetes: HLA-DQ and DR revisited. *Immunol Today*. 1996; 17: 323-329.
20. Gorodezky C, Olivo A, Debaz H, Rodríguez L, Altamirano N, Robles C. Los mecanismos moleculares de susceptibilidad y protección dependientes del MHC en la diabetes tipo I en mexicanos. *Gac. Méd. Méx.* 1995; 131:395-403.
21. Gorodezky C, Olivo A, Debaz H, Rodríguez L, De la Rosa G, Hernández Q, Juárez V, Altamirano N, Robles C y col. Inmunogenética de la diabetes mellitus tipo I en poblaciones mestizas de diversos países de Latinoamérica: México, Colombia y Venezuela. En: *La Genética Biológica de las Poblaciones Hispanoamericanas*. Municio AM y García Barreno P (eds.). La Real Academia de Ciencias de España, Madrid. 1996, PP 22.
22. Cucca F, Lampis R, Fray F y col. The distribution of DR4 haplotypes in Sardinia suggests a primaty association of type I diabetes with DRB1 and DQB1 loci. *Human Immunol.* 1995; 43:301-308.
23. Fernández-Viña M, Ramírez LC, Raskin P, Stastny P. *Tissue Antigens*; 1993; 41:57-64.
24. Todd JA. Genetic Control of autoimmunity in type I diabetes. *Immunol Today*. 1990; 11:22-25.
25. Vicario JL, Martínez Laso J, **Corell** A, Martín-Villa JM, Morales P, Lledo G, **Segurado** V OG, **DeJuan** D, **Arnaiz-Villena** A. Comparison between HLA-DRB and DQ, DNA sequences and classical serological markers as type I (insulin-dependent) diabetes mellitus in the Spanish population. *Diabetologia*, 1992; 35:475-481.
26. Setién Baranda F, Coto E, Menéndez Díaz J, Martínez Naves E, Álvarez Martínez V, López Larrea C. HLA class II susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes mellitus in a population of the northwest of Spain. *Eur J. Immunogenet.*, 1994; 21:219-226.
27. **Baldacci-Silano** PL, Layrisse Z, Domínguez E, Amaro R, Gunczler P, Lanes R, Zaro R, **Eur J. Immunogenetics**. 1994; 21:40 -414.
28. Bignon JD, Fernández-Viña M, **Arnaiz-Villena** A, Fauchet R, Weiss E, Powis S. Technical Handbook of the Twelfth International Histocompatibility Workshop. 1996. Charron D, Fauchet R (Eds.) HLA et Medicine, Paris.
29. **Serjentson** SW, **Court** J, **McKay** IR, Matheson B, Rowley MJ, Turni T, **Wilson** JD, Zimmet P. HLA-DQ genotypes are associated with autoimmunity to glutamic acid decarboxylase in insulin diabetic mellitus patients. *Human Immunol.* 1993; 38:97-104.
30. Erlich HA, Zeidler A, Chang J, Shaw S, Raffel LJ, **Klik** W, Beshkov Y, Cosin R, Pressman S, Bugawan TL, Rotter JL. HLA class II alleles and susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes mellitus in Mexican American families. *Nature Genetics*, 1993; 3:358-383.
31. Olivo A, Aláez C, Debaz H, Moreno M, Vázquez MN, De la Rosa G, Gorodezky C. The influence of the MHC on survival of human isolates. En: *Genetic Diversity of HLA. Functional and Medical Implications*. D Charron (De.) Vol 1. EDK, Paris, 1997 (en prensa).
32. **Bush** R, Hill CM, Hayball JD, Lamb JR, Rothbard JB. Effect of Natural polymorphism at residue 86 of the HLA-DRB chain on peptide binding. *J. Immunol.* 1991; 147:1292-1297.