



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina



TRABAJO DE FIN DE GRADO

Expresión de genes de predisposición en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico. De la genómica a la transcriptómica

GRADO EN MEDICINA

CURSO 2021/2022

Autora: Marina Sanz Ares

Alumna de 6^o de Medicina de la Facultad de Medicina de Valladolid

Tutor: Iván Cusácovich Torres

Médico Adjunto del Servicio de Medicina Interna, HCUV

Cotutor: David Andaluz Ojeda

Médico Adjunto del Servicio de Medicina Intensiva, CAUPA

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN..... | 2 |
| 2. INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| 2.1. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO. CONTEXTUALIZACIÓN | 2 |
| 2.2. PRINCIPIOS GENERALES DE LA ETIOPATOGENIA DEL LES..... | 4 |
| 2.3. PREDISPOSICIÓN GENÉTICA. LO QUE SE SABE | 5 |
| 2.4. TRANSCRIPTÓMICA. LO QUE NO SE SABE | 6 |
| 2.5. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO..... | 6 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS | 7 |
| 3.1. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA..... | 7 |
| 3.2. SELECCIÓN DE ARTÍCULOS. Criterios de inclusión y de exclusión..... | 8 |
| 4. RESULTADOS | 9 |
| 4.1. SELECCIÓN DE ESTUDIOS..... | 9 |
| 4.2. CLASIFICACIÓN DE LAS VARIANTES GENÉTICAS | 9 |
| 4.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS GENÉTICO | 11 |
| 4.4. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS ESTUDIOS CON Q-GENIE | 11 |
| 5. DISCUSIÓN..... | 11 |
| 5.1. DISCUSIÓN GENERAL..... | 11 |
| 5.2. DISEÑO DE LOS ESTUDIOS. Posibles sesgos | 12 |
| 5.3. DEBILIDADES Y FORTALEZAS | 15 |
| 5.4. PERSPECTIVAS FUTURAS | 16 |
| 6. CONCLUSIÓN..... | 17 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA..... | 17 |
| 8. ANEXOS..... | 22 |
| ANEXO I. Firma del neutrófilo y Respuesta Th17..... | 22 |
| ANEXO II. MÉTODOS DE ANÁLISIS GENÉTICO..... | 22 |

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune crónica multisistémica en cuya etiopatogenia participan factores genéticos. El análisis de los patrones de expresión ligados a mecanismos principalmente inmunológicos puede ser empleado con perspectiva diagnóstico-terapéutica. **OBJETIVO:** Conocer los genes de predisposición al LES que son candidatos a estar diferencialmente expresados y clasificarlos según su mecanismo molecular. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Revisión narrativa de la literatura en las bases de datos de PubMed, Embase, Scopus y Web Of Science. Uso del recurso informático RAYYAN-Intelligent Systematic Review para el manejo de los artículos encontrados y para realizar el cribado de los títulos y resúmenes. Lectura a texto completo de una muestra seleccionada de 50 artículos y evaluación de su calidad mediante la herramienta Q-Genie. **RESULTADOS:** Los genes candidatos a estar diferencialmente expresados en pacientes con LES pueden clasificarse según los siguientes mecanismos: vía del TLR, procesos de inflamación, firma del IFN de tipo I, firma de los granulocitos, firma del neutrófilo, alteraciones vinculadas al sistema del complemento, vía NFκβ, firma de los linfocitos T y respuesta Th17, firma de los linfocitos B, Ig y CDs, sistema del HLA de clase II, muerte celular, actividad telomerasa, reparación del ADN, receptores hormonales, metabolismo de xenobióticos e inactivación del cromosoma X. Se han identificado alteraciones epigenéticas relacionadas con la metilación, los miARN y lncARNs con efectos sobre múltiples genes. El análisis genético está dirigido hacia el estudio del genotipo y de la expresión génica mediante técnicas basadas en PCR y en secuenciación. De los 50 estudios revisados, 37 presentaban buena calidad y 13 calidad moderada. **CONCLUSIÓN:** En la etiopatogenia del LES intervienen diversos genes relacionados con diferentes mecanismos moleculares cuya clasificación permite caracterizar firmas genéticas de la enfermedad. Estos hallazgos pueden ser empleados en el futuro con perspectiva diagnóstica y terapéutica, favoreciendo un abordaje de la enfermedad basado en una medicina de precisión o personalizada.

Palabras clave: LES, revisión, etiopatogenia, predisposición, variante, genética, gen, genes diferencialmente expresados, casos y controles.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO. CONTEXTUALIZACIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune crónica multisistémica de etiología desconocida y cuya etiopatogenia tampoco se ha dilucidado

claramente, aunque se sabe de la interacción de diversos factores produciendo una disregulación inmune.

Epidemiológicamente, una revisión sistemática publicada en 2017 por Rees F *et al.*, confirma la existencia de diferencias significativas en incidencia y prevalencia en cuanto a la edad, sexo, geografía y etnia [1]. La enfermedad suele debutar en el 65% de los casos entre los 16 y los 55 años, aunque puede aparecer a cualquier edad. Es predominante en mujeres en edad fértil (9:1) [2], mientras que en el género masculino es menos frecuente y presenta un debut más tardío. Las mayores estimaciones se registraron en Norte América, la menor incidencia en África y Ucrania, y la menor prevalencia en el norte de Australia. En cuanto a la etnia, la frecuencia es mayor en personas de raza negra sobre personas de raza blanca. No obstante, estas diferencias pueden verse justificadas por factores genéticos y ambientales [1].

La enfermedad se presenta con un amplio espectro de manifestaciones clínicas y de gravedad variable, cuyo patrón durante los primeros años determina la evolución posterior. El curso clínico consta de fases de agudización y remisión de la enfermedad. Entre las manifestaciones podemos encontrar: musculoesqueléticas, mucocutáneas, pleuropulmonares, cardiovasculares, neuropsiquiátricas, renales, oftalmológicas, hematológicas, digestivas, linfadenopatía y esplenomegalia [2]. La evolución es variable, siendo el pronóstico desfavorable en caso de afectación renal y neurológica [3].

A pesar de que tanto la enfermedad como la terapéutica empleada conllevan mayor morbimortalidad, el pronóstico ha mejorado significativamente gracias a las mejoras en el tratamiento y manejo de estos pacientes [2], con una tendencia que pasa de 50-77% de mortalidad a los 5 años en la década de 1960 a buscar igualarse a la de la población general. Sin embargo, la mortalidad se encuentra aumentada 2-3 veces respecto a la población general [4].

El diagnóstico de LES ha experimentado una evolución con el paso de los años y actualmente se dispone de los Criterios clasificatorios de lupus de la EULAR/ACR de 2019. Están basados en la presencia obligatoria de un título de anticuerpos antinucleares (ANA) >1:80 sobre células HEp-2 o equivalente junto con una serie de criterios pertenecientes a 7 dominios clínicos (constitucional, hematológico, neuropsiquiátrico, mucocutáneo, serosas, musculoesquelético y renal) y 3 inmunológicos (anticuerpos antifosfolípido, complemento y anticuerpos específicos de LES), teniendo en cuenta unos criterios añadidos. Los criterios tienen asignada una puntuación del 2 al 10, y se clasifica al paciente en caso de presentar una suma ≥ 10 .

Estos criterios fueron definidos por expertos mediante el método Delphi y la técnica de grupo nominal, y presentan una sensibilidad y especificidad elevadas, del 96,1% y 93,4%, respectivamente. No obstante, estos criterios no son diagnósticos, sino de clasificación a efectos de seleccionar a los pacientes para estudios clínicos, y el juicio clínico experto es fundamental [5].

El abordaje terapéutico debe ser individualizado en función de las manifestaciones clínicas y otros factores. Sus objetivos son la remisión clínica y prevención de las exacerbaciones agudas, y control del daño orgánico producido por la propia enfermedad y por los efectos adversos farmacológicos, además de la mejora de la calidad de vida. Para ello, se dispone de un amplio arsenal terapéutico consistente en antipalúdicos (hidroxicloroquina), glucocorticoides, inmunosupresores clásicos (metotrexato, azatioprina, micofenolato de mofetilo, ciclofosfamida) y fármacos biológicos (belimumab, rituximab) [6].

2.2. PRINCIPIOS GENERALES DE LA ETIOPATOGENIA DEL LES

Aunque no se haya determinado con certeza la etiopatogenia del LES, se han identificado algunos factores que se encuentran interrelacionados y cuyo resultado es la disfunción del sistema inmune, tanto innato como adaptativo con producción de autoanticuerpos y generación de inmunocomplejos, que se depositan en los diferentes órganos y condicionan el daño de estos. Se han postulado los siguientes factores [2,3]:

- Factores ambientales:
 - La luz ultravioleta B [2,7].
 - El tabaquismo [8].
 - Exposición durante un tiempo prolongado a la sílice [8].
 - Un gran número de fármacos producen un cuadro conocido como lupus inducido por fármacos o lupus-like, caracterizado por la aparición de síntomas y ANA en un paciente sin historia de LES en el contexto de la toma de un determinado medicamento. Algunos de ellos son: la hidralazina, la procainamida...[2].
- Microorganismos. Activación del sistema inmune por infecciones víricas (VEB, virus de Epstein-Barr; o CMV, citomegalovirus), el LPS (lipopolisacárido) de la pared celular de las bacterias gramnegativas o el microbioma [9].
- Factores hormonales. La mayor incidencia en mujeres en edad fértil apunta a la importancia del estímulo estrogénico, con funciones de regulación de la respuesta inmune. El uso de anticonceptivos orales incrementa el riesgo de LES, principalmente en caso de reciente comienzo, dosis elevadas de etinilestradiol y aquellos de primera y segunda generación [10]. La menarquia y menopausia

(natural y quirúrgica) tempranas y la terapia hormonal sustitutiva han demostrado a su vez el aumento en el riesgo [11]. La prolactina también se encuentra elevada [2,12].

- Factores genéticos. Variaciones génicas y cambios epigenéticos.

2.3. PREDISPOSICIÓN GENÉTICA. LO QUE SE SABE

El LES es una enfermedad poligénica [13]. La genética juega un importante papel en la etiopatogenia, siendo la concordancia descrita entre gemelos monocigóticos de 24-57% (RR 315,94) y en dicigóticos 2-5%, con una heredabilidad del 43,9% [14,15]. La agregación familiar es de un 5-12% [8], y el riesgo es 17 veces mayor en familiares de primer grado [15].

Se conocen múltiples variaciones génicas (polimorfismos, alteraciones transcripcionales, variantes del número de copias) que incrementan la susceptibilidad al LES, identificadas mediante estudios de asociación de genoma completo (GWAS). Estas afectan a las funciones del sistema inmunitario: la región HLA (antígeno leucocitario humano), la inmunidad innata, la inmunidad adaptativa y la degradación de inmunocomplejos y de los productos de apoptosis [13]. En cuanto a la inmunidad innata, es importante reseñar el papel central de la vía de señalización del TLR (receptor tipo Toll) y el IFN (interferón) de tipo I (principalmente IFN α), ya que induce la expresión de un amplio número de genes, lo que se conoce como “firma del IFN de tipo I” [16,17]. Las variaciones génicas más frecuentes son las relativas a los genes de la región HLA (principalmente HLA-II) [3,18], mientras que las más características son las que afectan a la producción de IFN.

El predominio en el género femenino puede explicarse a su vez por la duplicidad del cromosoma X, existiendo alteraciones en los fenómenos de inactivación. Un ejemplo claro es el gen CXorf21 (cr.Xp21.2), inducido por el IFN de tipo I a través de TLRs y que escapa de la inactivación del cromosoma X en aproximadamente el 80% de los casos. [19]. La dosis de este cromosoma es asimismo influyente, ya que en las personas con síndrome de Klinefelter (cariotipo 47, XXY) la incidencia es mayor que en varones XY [13,19].

Además, la predisposición genética también se determina por alteraciones epigenéticas, siendo muy importantes la hipometilación genómica, las modificaciones de las histonas y el ARN no codificante (miARN y lncARN) [20,21].

2.4. TRANSCRIPTÓMICA. LO QUE NO SE SABE

Con todo lo conocido sobre la genética en el LES, aun no se han determinado qué patrones de expresión lo caracterizan. La evidencia científica en torno a ello está en constante aumento y se están ampliando los conocimientos acerca de qué genes están alterados [13], cómo es la alteración de su expresión (si se encuentran sobreexpresados o si por el contrario están reprimidos) y cómo encuadrarlos dentro del proceso fisiopatológico.

La importancia del conocimiento de estos patrones de expresión radica sobre la probable utilidad para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad, junto con el mejor entendimiento de su etiopatogenia. Si conocemos los genes alterados, su expresión y la función dentro del sistema inmunitario con la que se relacionan se puede plantear un diagnóstico más preciso y encauzar el tratamiento en dirección al mecanismo origen de la alteración.

2.5. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

Las alteraciones genéticas confieren predisposición al LES por medio de cambios en los patrones de expresión, que interactúan con el resto de factores mencionados produciendo la enfermedad.

Actualmente, para el diagnóstico de LES se emplean los criterios clasificatorios, desarrollados por concordancia de opiniones de expertos con el objetivo de homogeneizar la selección de pacientes para estudios clínicos. Sin embargo, no permiten un diagnóstico de certeza y el juicio clínico del experto es el gold standard [5].

Dada la importante influencia de la predisposición genética en la patogenia del LES, podría plantearse el análisis de los diferentes patrones de expresión genética entre pacientes e individuos sanos como parte del diagnóstico. Para ello, sería preciso conocer previamente los genes que confieren susceptibilidad a la enfermedad y analizar las diferencias de expresión que distinguen a estos pacientes de los individuos sanos, y así obtener patrones de expresión que puedan caracterizar a enfermos de LES.

En el presente trabajo se analiza la evidencia científica existente acerca de las variaciones genéticas que se asocian con mayor frecuencia a la presencia de LES respecto a controles sanos con el objetivo de disponer de una lista de genes candidatos a estar diferencialmente expresados, que serán objeto de estudio en una fase posterior del proyecto.

Entonces, se realizará en esta primera fase una revisión narrativa para dar respuesta a la siguiente pregunta: ¿cuáles son los genes de predisposición al lupus eritematoso

sistémico que podrían estar expresados diferencialmente respecto a los controles, clasificados según su mecanismo molecular?

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA

El presente trabajo es una revisión narrativa cuyo objetivo es dar respuesta a la pregunta de investigación antes planteada, mediante la búsqueda en pacientes con LES de genes candidatos a estar diferencialmente expresados en estudios de casos y controles relativos a la genómica, la transcriptómica y la epigenómica.

Se realizó una búsqueda estructurada en las bases de datos Medline (PubMed), EMBASE, SCOPUS, y Web of Science (WOS). Dicha búsqueda incluía los elementos principales de la pregunta: el lupus (la enfermedad) y los genes; limitando los resultados a estudios de casos y controles. La búsqueda abarca una línea temporal desde 1968 hasta el 10 de enero de 2022. Los términos de búsqueda empleados incluían términos MeSH y otras palabras clave relacionadas con la enfermedad estudiada y la genética, además de limitar los artículos encontrados a estudios observacionales de casos y controles. Se utilizó SR-Accelerator para traducir la búsqueda en las diferentes bases de datos [22,23]. En la siguiente tabla queda reflejada la relación de estos con la base de datos concreta:

Tabla 1. Términos de búsqueda

| | |
|-----------------------------|---|
| Medline (PubMed) | ((lupus erythematosus,systemic OR systemic lupus erythematosus OR SLE) AND (gene OR allele OR polymorphism OR SNP OR variant OR genetic)) AND (case control studies [MeSH Terms] OR case control) |
| EMBASE | ('lupus erythematosus,systemic' OR 'systemic lupus erythematosus' OR sle) AND (gene OR allele OR polymorphism OR snp OR variant OR genetic) AND ('case control studies'/exp OR 'case control') |
| SCOPUS | ((("lupus erythematosus,systemic" OR "systemic lupus erythematosus" OR sle) AND (gene OR allele OR polymorphism OR snp OR variant OR genetic)) AND ("case control studies" OR "case control")) |
| Web of Science (WOS) | ((("lupus erythematosus,systemic" OR "systemic lupus erythematosus" OR SLE) AND (gene OR allele OR polymorphism OR SNP OR variant OR genetic)) AND ("case control studies" OR "case control")) |

Los artículos obtenidos fueron incluidos en el programa RAYYAN-Intelligent Systematic Review (<https://www.rayyan.ai/>) [24] para facilitar su manejo, identificando los artículos duplicados. Este recurso permite la lectura de los títulos y resúmenes y separarlos en

función de su inclusión o su exclusión, seleccionando en este último caso la razón que motivó la misma.

3.2. SELECCIÓN DE ARTÍCULOS. Criterios de inclusión y de exclusión

Se realizó un primer cribado de los títulos y resúmenes utilizando Rayyan para seleccionar los artículos para su lectura a texto completo. Este primer cribado fue realizado de forma independiente por dos investigadores y se seleccionaron para la siguiente fase los artículos para los cuales había acuerdo de su relevancia. Los estudios para los que hubo discordancia fueron analizados por un tercer investigador para determinar su inclusión o descarte.

De entre los artículos encontrados se seleccionaron aquellos que cumplieran los siguientes criterios: 1) estudios observacionales de casos (pacientes con LES) y controles (sin LES); 2) estudios que demuestren asociación genética entre la variante y la enfermedad. Se aplicaron los siguientes criterios de exclusión: 1) no tratarse la enfermedad a estudio de LES; 2) estudios en animales; 3) estudios sin grupo control.

De todos los artículos seleccionados, se realizó la revisión de una muestra de 50 estudios elegidos al azar de entre aquellos en los que se analizaban variantes concretas en un número reducido de genes y relativas a firmas genéticas para obtener una visión general de los mecanismos que se encuentran alterados.

La evaluación de la calidad de los artículos resultantes se realizó con Q-Genie [25,26], herramienta diseñada para valorar la calidad de estudios de asociación genética. Consiste en un cuestionario con 11 ítems a los que se otorga una puntuación del 1 (pobre) al 7 (excelente). Para estudios con grupo control, <35 puntos indican mala calidad, >35 ≤45 moderada calidad y >45 buena calidad.

De cada uno de los artículos que se incluyeron en el estudio, se registraron las variables que se mencionan: nombre de la variante o gen candidato (variable principal), el mecanismo molecular implicado, tipo celular de la muestra estudiada, tipo de método de análisis, -ómica a la que pertenece, país y etnia de los participantes, y la fuente bibliográfica de la que se extrae (recogida mediante el año de publicación del estudio y su identificador PMID, o DOI en su defecto).

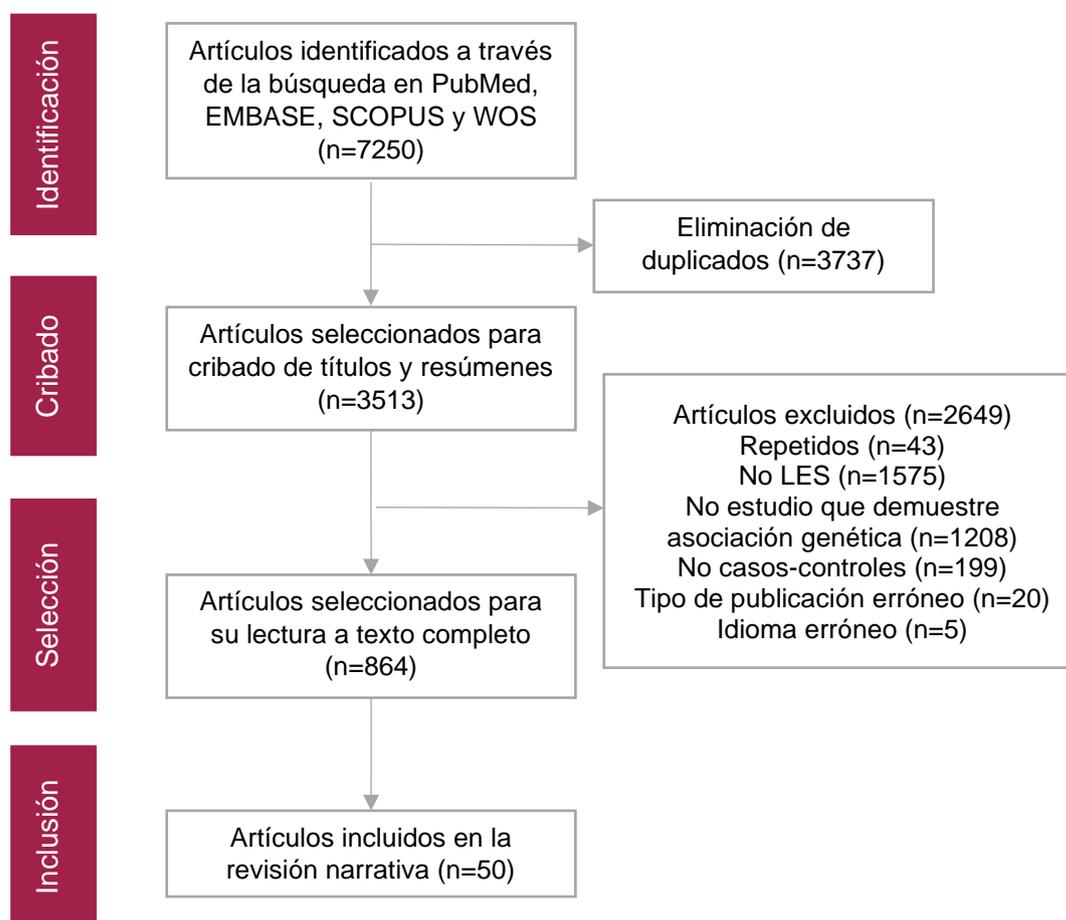
Las referencias de los estudios revisados se reflejaron en el apartado de Bibliografía con su DOI para cumplir los requisitos de extensión del trabajo.

4. RESULTADOS

4.1. SELECCIÓN DE ESTUDIOS

La búsqueda realizada con los términos expuestos proporcionó un total de 7250 estudios: PubMed (n=1963), Embase (n=1026), Scopus (n=1675) y Web of Science (WOS, n=2586). Se eliminaron 3737 duplicados, quedando 3513 para el primer cribado. Tras la lectura de títulos y resúmenes, 864 cumplieron los criterios de inclusión y exclusión. Los 2649 estudios restantes fueron excluidos por incumplimiento de criterios, en muchas ocasiones se combinaban varias razones. De entre los 864, se eligieron 50 para su revisión a texto completo. En el diagrama de flujo se expone el proceso de selección de artículos y se muestran las razones específicas de exclusión (Figura 1).

Figura 1. Selección de estudios y razones específicas de exclusión de la revisión



4.2. CLASIFICACIÓN DE LAS VARIANTES GENÉTICAS

En la Tabla 2 se recogen los 196 genes candidatos a estar diferencialmente expresados en pacientes con LES respecto a controles, clasificados según los mecanismos a través de los que actúan. De forma más concreta, los mecanismos implicados pueden dividirse según firmas genéticas de los diferentes subtipos celulares y otras vías de señalización

y sistemas que participan en la etiopatogenia del LES. Estos son principalmente inmunológicos y abarcan: la vía del TLR, los procesos de inflamación, la firma del IFN de tipo I, la firma de los granulocitos, la firma del neutrófilo, alteraciones vinculadas al sistema del complemento, la vía NFκβ, la firma de los linfocitos T y respuesta Th17, la firma de los linfocitos B, Ig y CDs y el sistema del HLA de clase II. Otros procesos afectados son: la muerte celular, el alargamiento de los telómeros, la reparación del ADN, la transcripción de receptores hormonales, el metabolismo de xenobióticos y los fenómenos de inactivación del cromosoma X.

Tabla 2. Genes de predisposición al LES según su mecanismo molecular

| | | | | | |
|------------------------------------|--|--|--|--|--|
| INMUNIDAD INNATA | TLRs | TLR7 [27], IRAK2 [28] | | | |
| | Respuestas | Inflamación – citoquinas proinflamatorias | IL-19 [29,30], IL-23R [31,32], TNF-308 [33], TNF-RII [34], COX-2, 15-PGDH [35], CD14 [36], SCUBE3 [37] | | |
| | | IFN de tipo I (α y β) | IRF5 [38], IRF8 [39], CXorf21 [19] | | |
| | Componentes | Inmunidad innata celular | Macrófagos-monocitos | IFNγ [40], LEPR [41], LTA [33], GP96 [42], Firma del neutrófilo [43] | |
| | | | PMN | PADI4 [44], ITGAM [45] | |
| Inmunidad innata humoral | | Complemento | Vía clásica | C1q [46], C2, C4 [47] | |
| | | | Vía MBL | FCN2 [48] | |
| Vías | Vía NFκβ | MDM2 [49], TNFAIP3 [45], RIP2 [50] | | | |
| INMUNIDAD ADAPTATIVA | Celular – LT | STAT4 [45,48,51], TNFSF4 [45], CTLA4 [52], FYB [53], MDM2 [49], Tim-1 (HAVCR-1) [46], eNOS [54], UBASH3A [55], CCR5 [56], IAN5 [57], Respuesta Th17 [32] | | | |
| | Humoral – LB, Ig y CDs | MDM2 [49], TNFSF4 [45], APRIL [58], GP96 [42] | | | |
| | Mecanismos de tolerancia | PDCD1 [59] | | | |
| HLA | Clase II | HLA-DRB1*0301/HLA-DR3 [47] | | | |
| MUERTE CELULAR | Apoptosis | FYB [53], MDM2 [49], LncRNA-GAS5 [60], BCL2 [29], TRAIL [46], eNOS [54], RIP2 [50], TNF-RII [34], PPARC [61] | | | |
| | Autofagia | UVARAG [7] | | | |
| TELOMERASA | PINX1, TERT [62] | | | | |
| REPARACIÓN DEL ADN | XDP [63] | | | | |
| RECEPTORES HORMONALES | LncRNA-GAS5 [60], VDR (vit.D) [64,65], ERα (estrógenos) [66] | | | | |
| METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS | GSTP1, CYP2E1 [67], CYP1A1, GSTM1 [34] | | | | |
| INACTIVACIÓN cr.X | CXorf21 [19] | | | | |

TLRs toll-like receptors, IFN interferón, PMN polimorfonucleares, NK natural killer, PCR proteína C reactiva, MBL mannose-binding lectin, LT linfocito T, LB linfocito B, Ig inmunoglobulina, CDs células dendríticas, HLA antígeno leucocitario humano.

Los genes involucrados en la firma del neutrófilo (131) y en la respuesta Th17 (15) se especifican en el apartado de Anexos.

Las alteraciones epigenéticas revisadas se encuentran en la Tabla 3. Su presentación a parte se debe a que ejercen su función sobre múltiples genes mediante la unión a sus promotores, modificando su transcripción y actuando a nivel de distintos mecanismos moleculares de forma simultánea.

Tabla 3. Alteraciones epigenéticas

| | |
|-------------------|---|
| Metilación | MECP2 [68,69] |
| miRNAs | -142, -155, -499a [49], -17HG [70], -17-5p [71], -181a, -223 [72], -125b-5p [7] |
| lncRNAs | GAS5 [60], LINC01420 [73] |

4.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS GENÉTICO

En los estudios revisados se emplearon diferentes técnicas de biología molecular para el análisis genético. En la Tabla 4 se resumen las más frecuentemente utilizadas.

Tabla 4. Métodos de análisis genético

| | GENOTIPADO | ANÁLISIS DE EXPRESIÓN |
|-----------------------------------|---|-----------------------|
| Técnicas basadas en PCR | PCR convencional qPCR (TaqMan) PCR-RFLP | RT-qPCR RT-PCR |
| Técnicas basadas en secuenciación | Microarray Secuenciación masiva | ARN-seq Microarray |

PCR Reacción en Cadena de la Polimerasa, qPCR PCR cuantitativa o en tiempo real, PCR-RFLP PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism, RT-PCR Reverse Transcription-PCR, ARN-seq ARN-sequencing

En el Anexo II se ofrece una breve explicación de las técnicas que figuran en la tabla.

4.4. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS ESTUDIOS CON Q-GENIE

De los 50 estudios revisados, 37 eran de buena calidad y 13 eran de calidad moderada. Por lo tanto, los artículos eran de calidad suficiente para su inclusión y ninguno de los analizados fue excluido por baja calidad.

5. DISCUSIÓN

5.1. DISCUSIÓN GENERAL

En la presente revisión se confirma que los genes diferencialmente expresados condicionan la aparición de la enfermedad a través de diversos mecanismos. El análisis de los 50 estudios seleccionados ha permitido adquirir una visión general de la cuestión. Estos mecanismo pueden dividirse según firmas genéticas de los diferentes subtipos celulares y otras vías de señalización y sistemas que participan en la etiopatogenia del LES. Entre los mecanismos inmunológicos se han caracterizado algunos relacionados

con la inmunidad innata como la firma del IFN de tipo I, la inmunidad adaptativa con firmas de los linfocitos T y B, y el sistema del HLA de clase II. Otros mecanismos no inmunológicos han sido identificados. Además, se documentan alteraciones epigenéticas relacionadas con la metilación, los miARNs y lncARNs, con efectos sobre muchos genes. El análisis genético está dirigido hacia el estudio del genotipo y de la expresión génica mediante dos tipos de técnicas, fundamentalmente: técnicas basadas en PCR y en secuenciación.

Otros investigadores han publicado revisiones con un planteamiento parecido. Saeed M en 2016 [74] presentó una clasificación similar, con algunas diferencias en cuanto a la ubicación de algunos apartados y la ausencia de otros, no considerando los genes que codifican proteínas del HLA ni los implicados en la reparación del ADN, el alargamiento de los telómeros o el metabolismo de xenobióticos. Recientemente ha sido publicada una revisión con el mismo objetivo, en la que se clasifican las variantes genéticas identificadas hasta el momento en estudios en poblaciones de diferente origen. Esta distinción se realiza en función de si se encuentran dentro de la región del HLA (más de 120 genes) o no (179) [75]. El sistema del HLA desempeña funciones de presentación de antígenos a las células del sistema inmune, y fuera de esta región se encuentran otros genes que también participan en algún punto de este, por lo que la clasificación propuesta refuerza la afirmación de que los mecanismos inmunológicos son los principalmente implicados. Esto fue también sugerido por Chaussabel D *et al.* con el diseño de un modelo basado en módulos transcripcionales que encuadran los diferentes mecanismos inmunológicos [76]. De entre ellos destaca la mencionada firma del IFN de tipo I. Un estudio realizado en 2016 y sustentado en el análisis modular refiere que 91% de los genes pertenecientes al módulo transcripcional del IFN está hiperexpresados en los pacientes pediátricos y el 97% en pacientes adultos en comparación con los controles sanos, manteniendo este porcentaje en adultos con elevada actividad frente a pacientes en remisión [77]. Estos hallazgos y los obtenidos en otros estudios confirman su relación con la severidad de la enfermedad. También se ha probado su asociación con la nefritis lúpica [78,79]. A diferencia de estos artículos, en esta revisión se aporta una clasificación más detallada, se hacen consideraciones acerca de las técnicas empleadas en el análisis genético y se asegura la calidad de los estudios de asociación.

5.2. DISEÑO DE LOS ESTUDIOS. Posibles sesgos

Puede sugerirse la existencia de posibles factores origen de sesgos en los estudios de asociación genética al LES. Esta conclusión se ha obtenido tras examinar desde una perspectiva más amplia los estudios revisados y los estándares de calidad marcados

por el Q-Genie. Estos factores pueden clasificarse en: características demográficas de los participantes (edad, sexo, etnia, comorbilidades y exposiciones ambientales), características de la enfermedad (criterios de clasificación de LES, SLEDAI, manifestaciones clínicas y complicaciones y tratamiento) y la metodología de análisis (tipo celular estudiado).

En primer lugar, es conveniente comentar los datos demográficos de los participantes. La edad de los participantes suele tenerse en cuenta, pero no siempre se registra la edad al diagnóstico cuando los participantes son adultos, lo que puede generar confusión entre la enfermedad en pacientes pediátricos con un previsible mayor riesgo genético y la que da comienzo en la edad adulta.

El sexo es una variable a destacar, ya que las mujeres son el colectivo afectado con mayor frecuencia. Esto supone una sobrerrepresentación femenina tanto en los estudios (algunos realizados únicamente con mujeres) como en las muestras de pacientes en los estudios mixtos, lo que podría justificar en parte las diferencias encontradas [16]. Estas diferencias según el género también tienen causas genéticas. En uno de los estudios seleccionados los casos y los controles se aparearon en función de edad, género e IMC y posteriormente se realizó un análisis estratificado de la asociación de un SNP del IFN γ según estas variables, encontrándose que el polimorfismo estudiado incrementaba el riesgo en mujeres [40]. Además, algunos autores han demostrado la asociación con alteraciones localizadas en el cromosoma X, como el gen MECP2 [68], el gen TLR7 [27], el lncRNA LINC01420 [73] o el gen CXorf21, que escapa de los fenómenos de inactivación [19].

La etnia de los participantes puede ser origen de sesgos, partiendo de la hipótesis de que las diferencias de incidencia según el origen geográfico pueden también ser debidas a diferencias genéticas. Entonces, en caso de no documentarse este dato, podría tomarse como variante de susceptibilidad para el conjunto poblacional una que solo afecta a un grupo concreto. Asimismo, el hecho de no encontrarse asociación no descarta que la variante en cuestión confiera riesgo en otra población de diferente origen. La mayor parte de los estudios revisados se llevaron a cabo en participantes de Asia Oriental, en concreto de origen chino, ya que un gran porcentaje de la evidencia científica sobre este ámbito es publicado por este colectivo. Tan abundante investigación puede estar motivada por la mayor frecuencia y severidad de la enfermedad en comparación con la población europea. La distribución de la incidencia según el origen étnico es bien conocida, y se han estudiado las diferencias genéticas subyacentes, encontrándose tanto polimorfismos específicos de una determinada población, como variantes comunes [80].

Además, algunas comorbilidades y exposiciones ambientales pueden interactuar con el ADN o con la clínica. El tabaquismo se ha probado como factor de riesgo de LES y es un inductor de la isoenzima CYP1A2, cuyo gen presenta variantes polimórficas asociadas a la enfermedad [34]. La exposición a la luz UVB también se ha demostrado como factor etiopatogénico. Se ha comprobado que reprime miR-125b-5p, lo que produce hiperexpresión de uno de sus genes diana: UVRAG (gen asociado a la resistencia a la luz ultravioleta), que tiene un papel importante en los mecanismos de autofagia vinculados al origen de la patología [7].

En segundo lugar, las características de la enfermedad de los pacientes deben documentarse adecuadamente.

En cuanto a los criterios de clasificación de LES, se debe tener presente que existen diferencias entre los pacientes informados con los criterios actuales y los de estudios más antiguos debido a los cambios de los criterios vigentes.

La actividad medida con SLEDAI resulta de interés, ya que se han demostrado diferencias según el nivel de actividad de la enfermedad. Se ha sugerido que el perfil genético de los individuos sanos podría ser indistinguible del de los pacientes en remisión completa [16]. Esto precisa de confirmación por estudios más amplios para concluir si debería considerarse como criterio de exclusión en los estudios. Por el contrario, algunas variantes se han asociado a mayor severidad del LES, como el bajo número de copias de C4 [47].

Por otro lado, las manifestaciones clínicas y las complicaciones que padecen los pacientes pueden influir en los resultados. Por ejemplo, en una muestra de pacientes en la que la mayoría padecen nefritis lúpica (NL) una variante genética podría mostrar diferencias estadísticamente significativas con los controles, haciendo pensar que dicha variante está asociada al LES cuando en realidad se asocia a la NL. Por lo tanto, conviene registrar el espectro clínico de los pacientes estudiados. Siguiendo esta línea, la complicación más ampliamente estudiada es la nefritis lúpica, para la que también se ha reportado asociación con genes como IL-19 [30], CD14 [36], INF γ [40], PADI4 [44], MDM2 [49], TLR7 [27] o IAN5 [57]. Más allá, se ha analizado el perfil transcripcional relacionado con esta complicación y se han revisado los estudios en sangre y tejido renal, relacionándose con las manifestaciones renales y documentando la relevancia de la firma de los neutrófilos como fuertemente asociada a la NL [81].

Los tratamientos pautados para el control de la patología pueden atenuar las firmas genéticas que distinguen a los pacientes de los controles. Así, se ha documentado la disminución de la firma del IFN en pacientes en tratamiento con corticoides [16,79]. Esto

significa que los fármacos utilizados han de tenerse en cuenta para el estudio de los perfiles transcripcionales, dado su potencial para modificar la expresión genética.

En lo relativo a la metodología del análisis, cabe reseñar el tipo celular estudiado. Puede abordarse la cuestión desde dos perspectivas. La mayoría de los estudios genéticos buscan la asociación en células mononucleares de sangre periférica (PBMC), pero otros como el publicado por Bennett L *et al.* [16] avalan la existencia de firmas genéticas según el tipo celular y molecular (firma del IFN, de los linfocitos B y T, y de los granulocitos). Esto implica diferencias de expresión que determinan manifestaciones como la leucopenia o la linfopenia. Por ello, como también sugiere Baechler EC *et al.* [78], es importante informar de las subpoblaciones celulares estudiadas. Por otro lado, hay estudios dirigidos hacia los linfocitos de sangre periférica [82], lo que puede incurrir en un sesgo si consideramos lo anteriormente comentado, ya que los resultados se extrapolan al resto de la población. En consecuencia, el estudio de la transcriptómica debe partir de la célula en la que se ha demostrado la asociación genética al LES.

Para concluir, conocer la genética de susceptibilidad del LES y sus mecanismos es fundamental para determinar perfiles transcripcionales característicos. La revisión realizada es un paso hacia este objetivo. Se propone una clasificación de los mecanismos moleculares afectados por las variantes estudiadas, haciendo referencia a la epigenética como vía de alteración de la expresión de múltiples genes. Se expone la metodología de análisis genético empleada. Por último, se refieren un conjunto de posibles factores condicionantes de los resultados de los estudios.

5.3. DEBILIDADES Y FORTALEZAS

A pesar de la relevancia de los resultados referidos, la revisión presenta algunas limitaciones 1) La restricción de la búsqueda a estudios de casos y controles. 2) El reducido tamaño de la muestra de estudios analizada. 3) El amplio rango de funciones que desempeñan los genes estudiados ha supuesto una dificultad añadida en su clasificación. 4) La no inclusión de la evidencia no publicada disminuye la sensibilidad de la búsqueda. 5) La existencia de variantes no estudiadas hasta el momento hace difícil abarcar todo el conocimiento sobre la predisposición genética en el LES. 6) La evaluación de la calidad con Q-Genie está sujeta a la subjetividad del evaluador, lo que dificulta la replicación de las puntuaciones. Otro inconveniente es la habitual ausencia de parte de la información requerida en el cuestionario.

Por otro lado, cabe mencionar las fortalezas del estudio, soportadas por un diseño sistemático de la revisión. 1) La búsqueda bibliográfica se ha realizado en cuatro bases

de datos diferentes. 2) Los términos de búsqueda se han elegido en base a los empleados en revisiones sistemáticas potentes. 3) La búsqueda abarca estudios tanto en el ámbito de la genómica como de la transcriptómica y la epigenómica. 4) El uso de Rayyan sistematiza cribado de los estudios. 5) El cribado por varios revisores potencia la fiabilidad de los estudios incluidos. 6) El cuestionario Q-Genie es una herramienta útil para la comprobación de la calidad de los estudios genéticos, ya que permite la búsqueda dirigida de información relativa a la elección de los participantes, la técnica empleada o el análisis estadístico. Su uso ha asegurado la suficiente calidad de los artículos revisados. Una ventaja añadida es que la experiencia en su empleo ha facilitado información sobre las características de un estudio genético de buena calidad. 7) La visión en conjunto de la literatura revisada permite apreciar la existencia de algunos factores que pueden generar confusión en los resultados de los estudios de asociación genética al LES, y que podrían no hacerlos atribuibles a toda la población. Su conocimiento puede ser de utilidad tanto para el diseño de estudios posteriores como para adquirir una perspectiva crítica al analizar estudios de esta índole.

5.4. PERSPECTIVAS FUTURAS

El objetivo de este estudio es establecer un modelo de clasificación de los genes de predisposición del LES en función de los mecanismos a través de los que actúan. En esta revisión se ha obtenido una visión panorámica de qué genes están alterados y se propone su clasificación. Para tener una perspectiva más completa en el futuro, una revisión sistemática de la literatura sería la modalidad más acertada, con ampliación de la clasificación e incluso añadiendo consideraciones basadas en la etnia de los participantes. Después, estos genes candidatos a estar diferencialmente expresados podrían analizarse desde la transcriptómica, y determinar aquellos que se expresan en conjunto para seleccionar los que tienen mayor peso en el riesgo. Ahora que se han perfilado algunos factores que pueden sesgar los resultados de los estudios y cuáles son los estándares de calidad que deben cumplir, es posible dirigir el diseño del estudio hacia su cumplimiento en la medida de lo posible, facilitando la elección de la muestra de participantes y la obtención de resultados extrapolables al resto de la población. Todo ello serviría para ampliar los conocimientos disponibles sobre la etiopatogenia del LES. Además, sería verdaderamente interesante su aplicación en la práctica clínica diaria como método diagnóstico complementario. Mediante una prueba de escasa invasividad podemos hallar biomarcadores genéticos que nos permitan establecer un perfil de la enfermedad del paciente y alcanzar conclusiones determinantes para la actuación posterior. Ello concierne al diagnóstico de LES, la medición de la actividad, su evolución, el desarrollo de complicaciones, su severidad potencial y el plan

terapéutico en aras de la medicina de precisión o personalizada. Un paso más allá sería la posibilidad de atajar algunas complicaciones importantes, como la nefritis lúpica, que confiere un peor pronóstico. Por ello, debería estudiarse esta manifestación con mayor profundidad, teniendo en cuenta que una modalidad diagnóstica menos invasiva podría incluso competir contra la clásica biopsia renal, a la que sin duda ganaría en lo relativo a los riesgos y a los requerimientos para su realización. Las técnicas de análisis genético basadas en PCR y secuenciación son empleadas de forma rutinaria en el laboratorio, por lo que son más accesibles para su uso de rutina. Otra idea comentada con frecuencia en los estudios es la posibilidad de hallar dianas terapéuticas basadas en las variantes genéticas diferencialmente expresadas. No obstante, es difícil inferir el riesgo genético a partir de una única variante, y la complejidad genética del LES limita las posibilidades de tratamiento dirigido salvo en los casos de LES monogénico con debut en edad pediátrica, en los que la genética cobra mayor importancia.

6. CONCLUSIÓN

En la etiopatogenia del LES intervienen diversos genes relacionados con diferentes mecanismos moleculares cuya clasificación permite caracterizar firmas genéticas de la enfermedad. Estos hallazgos pueden ser empleados en el futuro con perspectiva diagnóstica y terapéutica, favoreciendo un abordaje de la enfermedad basado en una medicina de precisión o personalizada.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Rees F, Doherty M, Grainge MJ, Lanyon P, Zhang W. The worldwide incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: a systematic review of epidemiological studies. *Rheumatology* 2017;56:1945–61.
2. Bertsias G, Cervera R, Boumpas D. Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis and Clinical Features [Internet]. 2012 [cited 2021 Dec 30]; Available from: https://www.eular.org/myuploaddata/files/sample%20chapter20_mod%2017.pdf
3. Sparks JA, Costenbader KH. Genetics, Environment, and Gene-Environment Interactions in the Development of Systemic Rheumatic Diseases. *Rheumatic Disease Clinics of North America* 2014;40:637–57.
4. Rúa-Figueroa I, Erausquin C. Factores asociados a la mortalidad del lupus eritematoso sistémico. *Seminarios de la Fundación Española de Reumatología* 2008;9:219–34.
5. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis & Rheumatology* 2019;71:1400–12.

6. Fanouriakis A, Kostopoulou M, Alunno A, Aringer M, Bajema I, Boletis JN, et al. 2019 update of the EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2019;78:736–45.
7. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.01.119
8. Costenbader KH, Kim DJ, Peerzada J, Lockman S, Nobles-Knight D, Petri M, et al. Cigarette smoking and the risk of systemic lupus erythematosus: A meta-analysis. *Arthritis & Rheumatism* 2004;50:849–57.
9. Rosenbaum JT, Silverman GJ. The Microbiome and Systemic Lupus Erythematosus. *New England Journal of Medicine* 2018;378:2236–7.
10. Bernier M odile, Mikaeloff Y, Hudson M, Suissa S. Combined oral contraceptive use and the risk of systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2009;61:476–81.
11. Costenbader KH, Feskanich D, Stampfer MJ, Karlson EW. Reproductive and menopausal factors and risk of systemic lupus erythematosus in women. *Arthritis & Rheumatism* 2007;56:1251–62.
12. Cohen-Solal J, Jeganathan V, Hill L, Kawabata D, Pinto-Rodriguez D, Grimaldi C, et al. Hormonal regulation of B-cell function and systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2008;17:528–32.
13. Bentham J, Morris DL, Cunninghame Graham DS, Pinder CL, Tomblinson P, Behrens TW, et al. Genetic association analyses implicate aberrant regulation of innate and adaptive immunity genes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics* 2015;47:1457–64.
14. Block SR, Winfield JB, Lockshin MD, D'Angelo WA, Christian CL. Studies of twins with systemic lupus erythematosus. *The American Journal of Medicine* 1975;59:533–52.
15. Kuo CF, Grainge MJ, Valdes AM, See LC, Luo SF, Yu KH, et al. Familial Aggregation of Systemic Lupus Erythematosus and Coaggregation of Autoimmune Diseases in Affected Families. *JAMA Internal Medicine* 2015;175:1518.
16. Bennett L, Palucka AK, Arce E, Cantrell V, Borvak J, Banchereau J, et al. Interferon and Granulopoiesis Signatures in Systemic Lupus Erythematosus Blood. *Journal of Experimental Medicine* 2003;197:711–23.
17. Bezalel S, Guri KM, Elbirt D, Asher I, Stoeber ZM. Type I interferon signature in systemic lupus erythematosus. *Isr Med Assoc J [Internet]* 2014;16:246–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24834763>
18. Hachicha H, Mahfoudh N, Fourati H, Elloumi N, Marzouk S, Feki S, et al. HLA Class III: A susceptibility region to systemic lupus erythematosus in Tunisian population. *PLOS ONE* 2018;13:e0198549.

19. DOI: 10.1038/s41467-019-10106-2
20. Long H, Yin H, Wang L, Gershwin ME, Lu Q. The critical role of epigenetics in systemic lupus erythematosus and autoimmunity. *Journal of Autoimmunity* [Internet] 2016;74:118–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaut.2016.06.020>
21. Honarpisheh M, Köhler P, von Rauchhaupt E, Lech M. The Involvement of MicroRNAs in Modulation of Innate and Adaptive Immunity in Systemic Lupus Erythematosus and Lupus Nephritis. *Journal of Immunology Research* 2018;2018:1–15.
22. Clark J, Glasziou P, del Mar C, Bannach-Brown A, Stehlik P, Scott AM. A full systematic review was completed in 2 weeks using automation tools: a case study. *Journal of Clinical Epidemiology* 2020;121:81–90.
23. Clark JM, Sanders S, Carter M, Honeyman D, Cleo G, Auld Y, et al. Improving the translation of search strategies using the Polyglot Search Translator: a randomized controlled trial. *Journal of the Medical Library Association* 2020;108.
24. Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan—a web and mobile app for systematic reviews. *Systematic Reviews* 2016;5:210.
25. Sohani ZN, Meyre D, de Souza RJ, Joseph PG, Gandhi M, Dennis BB, et al. Assessing the quality of published genetic association studies in meta-analyses: the quality of genetic studies (Q-Genie) tool. *BMC Genetics* 2015;16:50.
26. Sohani ZN, Sarma S, Alyass A, de Souza RJ, Robiou-du-Pont S, Li A, et al. Empirical evaluation of the Q-Genie tool: a protocol for assessment of effectiveness. *BMJ Open* 2016;6:e010403.
27. DOI: 10.1007/s00393-017-0283-7
28. DOI: 10.1007/s10067-019-04781-1
29. DOI: 10.1177/03000605211019187
30. DOI: 10.4238/gmr.15028007
31. DOI: 10.1016/j.aller.2019.05.007
32. DOI: 10.1111/1756-185X.12393
33. DOI: 10.1007/s11033-014-3051-7
34. DOI: 10.1093/rheumatology/kep166
35. DOI: 10.1111/1756-185X.13808
36. DOI:10.1177/0961203320972799
37. DOI: 10.1155/2020/8897936

38. DOI: 10.3899/jrheum.090440
39. DOI: 10.1111/iji.12087
40. DOI: 10.2147/PGPM.S323491
41. DOI: 10.1007/s10067-020-05120-5
42. DOI: 10.1111/1756-185X.13515
43. DOI: 10.1038/sj.ki.5002371
44. DOI: 10.1080/03009742.2018.1488273
45. DOI: 10.1177/0961203318786432
46. DOI: 10.1089/gtmb.2018.0056
47. DOI: 10.1177/0961203317735187
48. DOI: 10.1016/j.genrep.2020.100968
49. DOI: 10.2217/epi-2020-0278
50. DOI: 10.1093/mutage/ger081
51. DOI: 10.1136/ard.2008.097642
52. DOI: 10.1186/s13075-021-02664-y
53. DOI: 10.1016/j.humimm.2013.04.026
54. DOI: 10.1111/1756-185X.12510
55. DOI: 10.1016/j.gene.2015.04.005
56. DOI: 10.1007/s00296-015-3308-z
57. DOI: 10.1177/0961203309106830
58. DOI: 10.1093/rheumatology/kem093
59. DOI: 10.1177/0961203319878493
60. DOI: 10.1111/jcmm.16438
61. DOI: 10.1155/2020/7285747
62. DOI: 10.1155/2021/7079359
63. DOI: 10.1016/j.msard.2021.102985
64. DOI: 10.1155/2021/5812136
65. DOI: 10.1111/1756-185X.13245

66. DOI: 10.1111/1756-185X.13230
67. DOI: 10.1007/s11033-014-3496-8
68. DOI: 10.1371/journal.pone.0001727
69. DOI: 10.1007/s10753-015-0201-6
70. DOI: 10.1002/iid3.344
71. DOI: 10.1007/s00296-012-2543-9
72. DOI: 10.1002/jgm.3326
73. DOI: 10.1186/s13075-015-0857-1
74. Saeed M. Lupus pathobiology based on genomics. *Immunogenetics* 2017;69:1–12.
75. Ha E, Bae SC, Kim K. Recent advances in understanding the genetic basis of systemic lupus erythematosus. *Semin Immunopathol* 2022;44:29–46.
76. Chaussabel D, Quinn C, Shen J, Patel P, Glaser C, Baldwin N, et al. A modular analysis framework for blood genomics studies: application to systemic lupus erythematosus. *Immunity* 2008;29:150–64.
77. Zollars E, Courtney SM, Wolf BJ, Allaire N, Ranger A, Hardiman G, et al. Clinical Application of a Modular Genomics Technique in Systemic Lupus Erythematosus: Progress towards Precision Medicine. *Int J Genomics* 2016;2016:7862962.
78. Baechler EC, Batliwalla FM, Karypis G, Gaffney PM, Ortmann WA, Espe KJ, et al. Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2003;100:2610–5.
79. Feng X, Wu H, Grossman JM, Hanvivadhanakul P, FitzGerald JD, Park GS, et al. Association of increased interferon-inducible gene expression with disease activity and lupus nephritis in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2006;54:2951–62.
80. Goulielmos GN, Zervou MI, Vazgiourakis VM, Ghodke-Puranik Y, Garyfallos A, Niewold TB. The genetics and molecular pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) in populations of different ancestry. *Gene* 2018;668:59–72.
81. Alarcón-Riquelme ME. Transcriptome Studies in Lupus Nephritis. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 2022;70:15.
82. Li SW, He Y, Zheng ZH, Liu DW, Liu ZS. Single-nucleotide polymorphisms of IRF8 gene are associated with systemic lupus erythematosus in Chinese Han population. *Int J Immunogenet* 2014;41:112–8.

8. ANEXOS

ANEXO I. Firma del neutrófilo y Respuesta Th17

Firma del neutrófilo. OAS1, OAS2, OAS3, OASL, IFRG28, AZ2, MGC61571, NT5C3, AGRN, ANGPTL6, FLJ11286, APOL1, BAL, Hes4, BST2, BIN3, EGR3, FLJ14107, BTN3A3, CEACAM1, CASP5, CCR1, CXCL1, C1orf29, C9orf83, CEB1, CYSLTR1, RIG-I, DOCK4, DHRS9, DNAPTP6, DAPP1, EGR2, ELL2, EPSTI1, ETV7, FBXO6, FCGR1A, FCGR2B, FCGR2C, FLJ20073, FLN29, GALM, GBP1, GBP3, GBP4, GBP5, LOC113730, MGC20410, DKFZp761G058, FLJ11286, FLJ20035, FLJ31033, FLJ36874, FLJ38348, FLJ39885, LOC129607, LOC200213, MGC16202, MGC27466, IRF7, ISG20, IFI27, G1P2, G1P3, IFI16, IFI35, IFI44, IFIT1, IFIT2, IFIT4, IFIT5, IL8, KIAA0082, KIAA1268, KIAA1554, LGALS3BP, LAP3, ACATE2, LGP2, LY6E, LAMP3, MAML2, MDA5, MT1E, MT1F, MT1H, MT1X, MT1E, MT2A, MOV10, LOC203274, MX1, MX2, NAPA, SP100, OTOF, PRIC285, PMAIP1, PIK3AP1, PLSCR1, PNPT1, PRO1073, PDCD1LG1, PML, PORIMIN, PTGS2, PRKR, G0S2, RAP2C, BBAP, SCO2, SCOTIN, SERPING1, SN, APOF, STAT2, SP110, SP140, TREX1, TOR1B, T2BP, TAP1, TAP2, TRIM14, TRIM22, TRIM5, TRIM6, TNFSF10, TNFSF13B, USP18, UBE2L6, UNC93B1, cig5, WASPIP, HSXIAPAF1, ZBP1, ZC3HDC1, ZCCHC2.

Respuesta Th17. IL-17A, IL-17C, IL-17D, IL-17F, IL-18, IL-12RB2, IL-23R, CCL2, CCL20, CXCL5, MMP3, RORC, STAT4, TRAF6, TGFB1.

ANEXO II. MÉTODOS DE ANÁLISIS GENÉTICO

Técnicas basadas en PCR:

- PCR convencional.
- qPCR o PCR en tiempo real. Se emplean de agentes intercalantes o fluoróforos, lo que permite cuantificar en tiempo real el material genético amplificado.
- PCR-RFLP. Se emplean enzimas de restricción que digieren los productos amplificados y pueden identificarse fragmentos de ADN de diferente tamaño.
- RT-PCR. Está basada en la amplificación del ADN complementario obtenido a través de la transcripción inversa del ARN, por lo que es útil para el análisis de expresión y además puede también realizarse un análisis cuantitativo en tiempo real (RT-qPCR).

Técnicas basadas en secuenciación:

- Microarray. Consiste en la hibridación del material genético a estudio con sondas control depositadas sobre un soporte sólido y analizar la intensidad de fluorescencia emitida.
- Secuenciación masiva. Tecnología para la generación de grandes cantidades de material genético secuenciado. La secuenciación consiste en la determinación de la secuencia de nucleótidos del ADN.
- ARN-seq. Secuenciación del ARN.



EXPRESIÓN DE GENES DE PREDISPOSICIÓN EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO. DE LA GENÓMICA A LA TRANSCRIPTÓMICA



Universidad de Valladolid

Facultad de Medicina

Autora: Marina Sanz Ares - Alumna de 6º de Medicina de la Facultad de Medicina de Valladolid

Tutor: Iván Cusácovich Torres - Médico Adjunto del Servicio de Medicina Interna, HCUV

Cotutor: David Andaluz Ojeda - Médico Adjunto del Servicio de Medicina Intensiva, CAUPA

INTRODUCCIÓN - OBJETIVO

PREDISPOSICIÓN GENÉTICA



DX=MÉDICO+CRITERIOS CLASIFICATORIOS



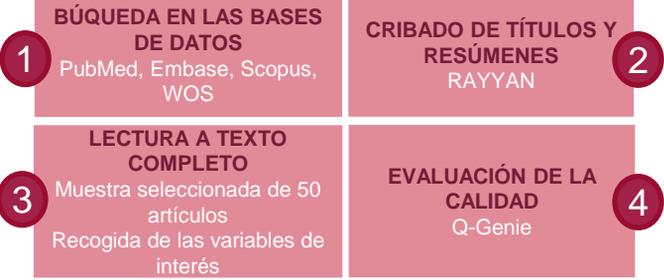
TTO - CLÍNICA



¿Cuáles son los genes de predisposición al LES que podrían estar expresados diferencialmente respecto a los controles, clasificados según su mecanismo molecular?

MATERIAL Y MÉTODOS

REVISIÓN NARRATIVA DE LA LITERATURA



RESULTADOS

Selección de estudios

Clasificación de las variantes genéticas

Figura 1.

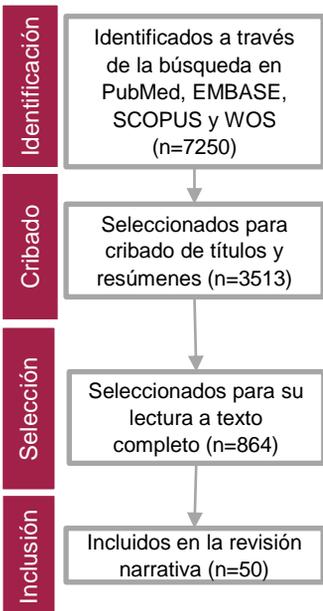


Tabla 1. Genes de predisposición al LES según su mecanismo molecular

| | | |
|-----------------------------|--|---|
| INMUNIDAD INNATA | TLR | TLR7, IRAK2 |
| | Respuestas | Inflamación – citoquinas proinflamatorias IL-19, IL-23R, TNF-308 TNF-RII, COX-2, 15-PGDH, CD14, SCUBE3 |
| | Componentes | IFN de tipo I IRF5, IRF8 |
| | | Inmunidad innata celular Macrófagos-monocitos PMN IFN γ , LEPR, LTA, GP96, Firma del neutrófilo PADI4, ITGAM |
| Vías | Inmunidad innata humoral Complemento Vía clásica C1q, C2, C4 Vía MBL FCN2 | |
| INMUNIDAD ADAPTATIVA | Celular – LT | STAT4, TNFSF4, CTLA4, FYB, MDM2, Tim-1 (HAVCR-1), eNOS, UBASH3A, CCR5, IAN5, Respuesta Th17 |
| | Humoral – LB, Ig y CDs | MDM2, TNFSF4, APRIL, GP96 |
| | Tolerancia | PDCD1 |
| HLA | Clase II | HLA-DRB1*0301/HLA-DR3 |
| MUERTE CELULAR | Apoptosis | FYB, MDM2, LncRNA-GAS5, BCL2 TRAIL, eNOS, RIP2, TNF-RII, PPAR |
| | Autofagia | UVARAG |
| TELOMERASA | | PINX1, TERT |
| REPARACIÓN DEL ADN | | XDP |
| RECEPTORES HORMONALES | | LncRNA-GAS5, VDR (vit.D), ER α (estrógenos) |
| METABOLISMO DE XENOBIÓTICOS | | GSTP1, CYP2E1, CYP1A1, GSTM1 |
| INACTIVACIÓN cr.X | | CXorf21 |

Métodos de análisis genético

Tabla 3.

| GENOTIPADO | ANÁLISIS DE EXPRESIÓN |
|-------------------|-----------------------|
| PCR SECUENCIACIÓN | |

Tabla 2. Alteraciones epigenéticas

| | |
|------------|--|
| Metilación | MECP2 |
| miRNAs | -142,-155,-499a,-17HG,-17-5p,-181a,-223,-125b-5p |
| lncRNAs | GAS5, LINC01420 |

Evaluación de la calidad

Buena 37 Moderada 13

CONCLUSIÓN

En la etiopatogenia del LES intervienen diversos genes relacionados con diferentes mecanismos moleculares cuya clasificación permite caracterizar firmas genéticas de la enfermedad. Estos hallazgos pueden ser empleados en el futuro con perspectiva diagnóstica y terapéutica, favoreciendo un abordaje de la enfermedad basado en una medicina de precisión o personalizada.

BIBLIOGRAFÍA

