

RELEVANCIA DEL POLIMORFISMO DE ELIMINACIÓN DEL GEN *GSTM1* Y *GSTT1* EN PACIENTES CON NEFRITIS LUPICA

RELEVANCE OF THE ELIMINATION POLYMORPHISM OF THE *GSTM1* AND *GSTT1* GENE IN PATIENTS WITH LUPIC NEPHRITIS

Jorge Garrido Baza¹, Jairo Rojano Rada², Mercedes Fernández Mestre³

Resumen: **Objetivo:** Identificar si la ausencia de los genes *GSTM1* y/o *GSTT1* está correlacionada con la respuesta a ciclofosfamida y con la presencia de anti DNA en paciente con LES. **Metodología:** Estudio transversal correlacional, que incluyó 46 pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso sistémico (LES), que acudieron a la consulta de reumatología del Instituto Venezolano del Seguro Sociales- Hospital Central “Dr. Miguel Pérez Carreño”, durante el período septiembre 2016 – junio de 2017. Los pacientes con LES se clasificaron de acuerdo a la presencia o no de afectación renal (nefritis lúpica). A cada individuo se le extrajo 5 mL de sangre periférica, a partir de la cual se extrajo el ADN genómico. La presencia o ausencia de los genes *GSTM1* y *GSTT1* se determinó utilizando el método de reacción en cadena de la polimerasa múltiple con iniciadores específicos. **Resultados:** En la población estudiada (n= 46), 95,7% eran mujeres y sólo 4,3% hombres. La edad media fue de 31 años, siendo en su mayoría mujeres jóvenes en edad fértil. El tratamiento de los pacientes, comprendió el uso de cloroquina (78%), micofenolato (69,6 %) y corticoides (38,7%). Los genes *GST* estuvieron presentes, el gen *GSTM1* con una frecuencia del 100 % y *GSTT1* del 93,5%. Solo un 6,5% de los pacientes no presentaron el gen *GSTT1*. **Conclusión:** No se observó una correlación entre la presencia y/o ausencia de los genes *GSTM1* y *GSTT1* con la respuesta al tratamiento con Ciclofosfamida ni a la presencia de anti-DNA.

Palabras clave: LES; Características clínicas; Artritis; Eritema; Nefritis lúpica.

¹ Adjunto del postgrado de medicina interna. Miembro del grupo de intervención clínica del Centro de Investigaciones Biomédicas del postgrado de medicina Interna de la Universidad Central de Venezuela - UCV sede Hospital Central del IVSS Dr. Miguel Pérez Carreño. Orcid.org/0000-0001-5203-1165. Correo: jbazan90@hotmail.com

² Internista – Reumatólogo – Magister Scientiarum de Epidemiología, Miembro del Comité Nacional de enfermedades reumáticas, inmunológicas, dermatológicas y metabolismo óseo del IVSS Director del Centro Biomédico de UCV Investigación en Medicina Interna – CEBIMI, Universidad Central de Venezuela, Hospital Central del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales “Dr. Miguel Pérez Carreño”, Caracas, Venezuela. Orcid.org/0000-0001-7981-3167 Correo: cebimehmpc@gmail.com

³ Doctor en Biología, Mención Inmunología. Coordinadora y Docente de la materia Inmunogenética, Postgrado en Inmunología. Laboratorio de Fisiopatología Centro de Medicina Experimental “Miguel Layrisse” Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas - IVIC. Caracas, Venezuela. Orcid.org/0000-0001-6227-5884. Correo: mfernandezmestre@gmail.com

Abstract: **Objective:** To identify if the absence of the GSTM1 and / or GSTT1 genes is correlated with the response to cyclophosphamide and the presence of anti DNA in a patient with SLE. **Methodology:** An correlational cross study that included 46 patients with a diagnosis of systemic lupus erythematosus. (LES), who attended the rheumatology clinic of the Venezuelan Institute of Social Security- Central Hospital "Dr. Miguel Pérez Carreño ", during the period June 2016 - June 2017. Patients with SLE were classified according to the presence or absence of renal involvement (lupus nephritis). Each individual was extracted 5 mL of peripheral blood, from which the genomic DNA was extracted. The presence or absence of the GSTM1 and GSTT1 genes was determined using the multiplex polymerase chain reaction method with specific primers. **Results:** In the studied population (n = 46), 95.7% were women and only 4.3% men. The average age was 31 years, being mostly young women of childbearing age. The treatment of patients included the use of chloroquine (78%), mycophenolate (69.6%) and corticoids (38.7%). The GST genes were present, the GSTM1 gene with a frequency. **Conclusion:** No correlation was observed between the presence and / or absence of the GSTM1 and GSTT1 genes with the response to treatment with Cyclophosphamide or the presence of anti-DNA.

Key words:

SLE; Clinical features; Arthritis; Erythema; Lupus nephritis.

INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune caracterizada por una variedad de manifestaciones clínicas y un amplio perfil de autoanticuerpos¹. Es una condición altamente heterogénea, ya que los pacientes exhiben diferentes combinaciones de síntomas clínicos y parámetros de laboratorio. La autoinmunidad humoral es una característica distintiva de LES y muchos pacientes poseen autoanticuerpos circulantes dirigidos contra el ADN bicatenario (anti-ds-ADN) y/o pequeñas proteínas de unión a ARN nuclear (como anti-Ro, anti-La, anti-Sm, y anti-RNP)². Una manifestación común y severa del lupus eritematoso sistémico es la nefritis lúpica, que afecta a más del 60% de los pacientes, contribuyendo así con la morbilidad y la mortalidad de esta patología³. La inmunopatología de la nefritis lúpica se basa en una respuesta inmunitaria innata y adaptativa aberrante contra autoantígenos nucleares, incluido el ADN bicatenario⁴.

El LES es una enfermedad multifactorial, en cuyo desarrollo se han implicado factores genéticos, ambientales y alteraciones de la respuesta inmunitaria innata y adaptativa. Entre los factores ambientales comúnmente asociados al desarrollo de dicha enfermedad se encuentran la radiación ultravioleta, la infección por virus de Epstein-Barr (EBV) y fármacos, como quinidina, procainamida e hidralazina⁵. Un tema clave en la patogénesis del lupus es cómo son expuestos los antígenos intracelulares y son atacados por el sistema inmunitario. En este sentido, la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el estado redox alterado, pueden causar anomalías en la activación de la apoptosis, y son considerados como factores dominantes involucrados en la producción y expansión de anticuerpos, así como de diversas características clínicas del LES. Varios estudios han demostrado el papel de ROS en la desregulación de la apoptosis, incrementando la apoptosis y retrasando la limpieza de cuerpos apoptóticos. El retraso en la limpieza de las células apoptóticas pueden prolongar la interacción entre ROS y restos nucleares y generar neo-epítomos, que posteriormente estimulan un amplio espectro de formación de autoanticuerpos, que guían a la inflamación y daño de órganos en LES. Todas las biomoléculas (lípidos, proteínas y ADN) pueden dañarse por la producción excesiva de ROS y los productos de estas cascadas de modificación oxidativa pueden detectarse en fluidos biológicos, correlacionándose su abundancia con la actividad de la enfermedad y el daño de órganos en pacientes con LES, sugiriendo que la modificación oxidativa actúa como biomarcadores.⁶ La protección contra las especies reactivas de oxígeno es llevada a cabo por sistemas antioxidantes intracelulares, que dependen principalmente de la disponibilidad de glutatión reducido⁷. Los antioxidantes incluyen sistemas enzimáticos, como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), las enzimas relacionadas a glutatión (GPx, GR, GST y tioredoxina reductasa) y la hemo oxigenasa, y no enzimáticos, como vitaminas (A, C, E) y carotenoides, flavonoides, glutatión y otros minerales antioxidantes (cobre, ferritina, zinc, manganeso, selenio etc.). Numerosos polimorfismos de genes que codifican las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y NADPH oxidasa se han asociado con

riesgo de LES. Sin embargo, algunas de estas asociaciones parecen ser étnicamente dependiente⁶.

Las Glutación S-transferasas (GST) son una súper familia de enzimas de desintoxicación que son esenciales para la protección celular contra el daño oxidativo, así como en la biotransformación de xenobióticos, debido a su actuación sobre una amplia variedad de sustratos, mediando la conjugación de glutatión reducido a especies electrofílicas, lo cual guía a la eliminación de compuestos tóxicos. Entre las clases principales de este sistema, los genes *GSTM1* y *GSTT1* exhiben un polimorfismo de eliminación. que en homocigosis conduce a la ausencia de las isoformas activas de estas enzimas. El alelo *GSTT1* nulo, con una frecuencia de 11-38% en diferentes poblaciones, resulta en la supresión de un segmento genómico de 50 kb que contiene el gen completo. Mientras que el alelo *GSTM1* nulo, con una frecuencia variable de 20-70% consiste en una eliminación de una secuencia de 15 kb⁸.

Considerando que la variación individual de los genes *GSTM1* y *GSTT1* pueden tener un impacto sobre su actividad antioxidante, afectando las concentraciones de especies reactivas y estrés oxidativo, así como el metabolismo de xenobióticos y radicales libres, planteamos determinar la correlación del polimorfismo de eliminación de los genes *GSTM1* y *GSTT1* en la respuesta a tratamiento y la presencia de anticuerpos anti ADN en pacientes con LES.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio transversal y correlacional, representado por 46 mujeres venezolanas, no relacionadas, con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico de acuerdo a los criterios diagnósticos definidos por **SLICC/ACR** (Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology)⁹. Se incluyeron aquellos pacientes mayores de 18 años y sin distinción de géneros que acudieron a la Unidad de Reumatología y metabolismo óseo (UIRMO) del Hospital Central del IVSS “Dr. Miguel Pérez Carreño”, durante el período comprendido de Junio 2016 -Diciembre de 2017. Se establecieron como criterio de exclusión aquellos pacientes con

comorbilidades incapacitantes graves (Enfermedades psiquiátricas o daño cerebral de origen estructural), drogadicción y/o alcoholismo que condicionen una inadecuada recolección de los datos requeridos.

Las pacientes firmaron un consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética del “Hospital Central del IVSS Dr. Miguel Pérez Carreño”. El estudio molecular fue realizado en la Sección Inmunogenética, Laboratorio de Fisiopatología Centro de Medicina Experimental “Miguel Layrisse”, Centro de Medicina Experimental del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas - IVIC.

Extracción del ADN genómico

El ADN genómico fue extraído de los leucocitos de sangre periférica utilizando el protocolo de Bunce,¹⁰ en el cual se utiliza cloroformo como solvente orgánico.

Determinación del polimorfismo de eliminación PCR-SSP de los genes *GSTT1/GSTM1*

Para detectar la presencia o ausencia de los genes *GSTM1* y *GSTT1* se utilizó el método PCR múltiplex. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó empleando la siguiente mezcla de reacción: PCR Buffer 1X, 0.75 μ M de cada uno de los iniciadores para los genes *GSTM1* y *GSTT1*, 0.2 μ M de los iniciadores de *Albúmina*, 0.2 mM de dNTPs, 2.5 mM de KCl, 0.4 mM de Tris-HCl, 3.25 mM de $MgCl_2$, 0.02 U/ μ L de la enzima Taq polimerasa Platinum (Invitrogen), 25 ng de ADN genómico. El ciclo de reacción utilizado fue el siguiente: 95°C durante 2 minutos, seguido por 30 ciclos con las siguientes características: 94°C: 1 minuto, 64°C: 1 minuto y 72°C: 1 minuto. Culminado el número de ciclos señalados, la etapa de extensión final se realizó a 72°C durante 5 minutos. Los productos amplificados fueron visualizados en un gel de agarosa (Agarosa LE, ACTGENE) al 2 %, coloreado con bromuro de etidio.

Análisis Estadístico

Los cálculos de frecuencias, los análisis descriptivos y las correlaciones se llevaron a cabo con el paquete estadístico SPSS *Statistics 17*. El resultado la correlación es indicada como un coeficiente de correlación (r) que va de +1.0 a -1.0. En general un $r > 0$ indica una relación positiva y un $r < 0$ indica una relación negativa, mientras que $r = 0$ indica que las variables son independientes y no están relacionadas. En el caso positivo, ambas variables aumentan o disminuyen juntas en la misma dirección, por el contrario, en el caso negativo el cambio se produce en la dirección opuesta, de modo que el aumento de una variable está acompañado con el descenso de la otra¹¹.

RESULTADOS

Características demográficas y epidemiológicas

El 95,7% de los participantes eran mujeres; el rango de edad comprendido fue de 19 y 71 años (edad promedio: $31 \pm 9,4$ años). Un 91% de las pacientes eran de nacionalidad venezolana y 9 % de nacionalidad colombiana. En cuanto a la ocupación laboral, 56 % tenían un trabajo estable, 20 % laboraban como independiente y 22 % estaban desempleadas y 2% jubilados. (Tabla 1)

Tabla 1. Características demográficas y epidemiológicas de las pacientes con LES.

Características	Pacientes (n=46)
Sexo	
Femenino	95,7% (44)
Rango Edad (promedio)	
Nacionalidad	
Venezolano	91% (42)
Colombiano	9% (4)
Ocupación laboral	
Empleado	56% (26)
Desempleado	22% (10)
Independiente	12% (9)
Jubilado	2% (1)

Fuente: Datos propios de la investigación (Garrido, Fernández, Rojano; 2017)

Marcadores inmunológicos, criterios diagnósticos, severidad, comorbilidades y nefritis lúpica

Con respecto a los marcadores inmunológicos, el 87 % de las pacientes presentaban anticuerpos anti-DNA, 13.0 % anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) y 100 % anticuerpos antinucleares (ANA), con distintos patrones de tinción por inmunofluorescencia. Al comparar los criterios diagnósticos de SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics) con los criterios ACR (American College of Rheumatology) se pudieron diagnosticar 63% de los pacientes con los criterios de SLICC, pero solo 37% con los criterios de ACR. En cuanto a la escala de severidad se aplicó SLEDAI, observándose en un 76,1 % de los pacientes una actividad leve, seguida por una actividad moderada (13 %) y sin actividad (10,9 %). Entre las comorbilidades, la enfermedad renal crónica fue la más frecuente (80%), seguida por hipertensión arterial (56%), depresión (48%), hipotiroidismo (37%), dislipidemia (26%) expresada al menos una vez por hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia durante el curso de la enfermedad, diabetes mellitus tipo 2 (11%), osteoporosis (4%) y manifestaciones articulares frecuentes (4 %). En relación a los datos de la biopsia renal, realizada en un 78% de las pacientes, el 30% de las pacientes presentaban nefritis lúpica focal (clase 3) y nefritis lúpica difusa (clase 4), según los criterios ISN/RPS (2003)¹². El 21% restante de las pacientes con diagnóstico de LES, no se les realizó biopsia renal. (Tabla 2)

Tabla 2. Marcadores inmunológicos, criterios diagnósticos, severidad, comorbilidades y nefritis lúpica en los pacientes con LES.

Características	Pacientes (n=46)
Marcadores inmunológicos	
AntiDNA positivo	87% (40)
ANCA positivo	13% (6)
ANA positivo:	
Difuso	37% (17)

Moteado	22% (10)
Nucleolar	20% (9)
Centromérico	19% (9)
Homogéneo	2% (1)
Criterios Diagnóstico	
ACR	37% (17)
SLICC	63% (29)
Severidad según SLEDAI	
No actividad	11% (5)
Leve	76% (35)
Moderada	13% (6)
Comorbilidades	
Enfermedad renal crónica	80% (37)
Hipertensión arterial	56% (26)
Depresión	48% (22)
Hipotiroidismo	37% (17)
Dislipidemia	26% (12)
Diabetes	11% (5)
Osteoporosis	4% (2)
Artritis	4% (2)
Nefritis lúpica	
Proliferativa mesangial (Clase 2)	17% (7)
Focal (Clase 3)	30% (14)
Difusa (Clase 4)	30% (14)
Membranosa (Clase 5)	2% (1)
Sin biopsia renal	21% (10)

Fuente: Datos propios de la investigación (Garrido, Fernández, Rojano; 2017)

Indicadores terapéuticos.

En la población de estudio el tratamiento fue recibido de forma regular por el 57 % de las pacientes, abarcando el uso de cloroquina (78%), ciclofosfamida en al menos una oportunidad (74%), micofenolato (70%), y corticoides (59%). El 50 % de las pacientes cumplieron tres ciclos de ciclofosfamida, 33 % no lo cumplieron y 17 % cumplieron 3 o más ciclos. Con respecto a la respuesta a ciclofosfamida, el 80,4 % respondió efectivamente y solo un 2,2 % no respondió a este tratamiento (Tabla 3).

Tabla 3. Características clínicos-terapéuticos relacionados a LES

Indicadores	Pacientes (n=46)
Tratamiento regular	
Si	57% (26)
No	43% (20)
Tratamientos	
Cloroquina	78% (36)
Ciclofosfamida	74% (34)
Micofenolato	70% (32)
Corticoides	59% (27)
Ciclos de Ciclofosfamida	
3 ciclos cumplidos	50% (23)
No cumplidos	33% (15)
3 o más ciclos	17% (8)
Respuesta al tratamiento de ciclofosfamida	
Completa	80,4% (37)
Parcial	17,4% (8)
Sin respuesta	2,2% (1)

Fuente: Datos propios de la investigación (Garrido, Fernández, Rojano; 2017)

Distribución de los genes GST en pacientes con LES.

En la tabla 4 se muestra la frecuencia de los genes *GSTM1* (presente +, nulo -) y *GSTT1* (presente +, nulo -) en individuos con LES. Se observó la presencia del gen *GSTM1* en el 100 % de los pacientes con LES. En contraste, 93,5 % de los pacientes presentaron el gen *GSTT1* y 6,5 % la ausencia del mismo (*GSTT1*-). De las cuatro combinaciones posibles, solo se observaron dos combinaciones de genes: *GSTM1*+/*GSTT1*+ (93,5 %) y *GSTM1*+/*GSTT1*- (6,5 %).

Tabla 4. Frecuencia de los genes y de las combinaciones genotípicas *GSTM1* y *GSTT1* en pacientes con LES

Gen	LES (n=46)
<i>GSTM1</i>+	100% (46)
<i>GSTT1</i> +	93,5% (43)
<i>GSTT1</i> -	6,5% (3)

Combinaciones	
<i>GSTM1+</i> <i>GSTT1+</i>	93,5% (43)
<i>GSTM1+</i> <i>GSTT1-</i>	6,5% (3)

Fuente: Datos propios de la investigación (Garrido, Fernández, Rojano; 2017)

Correlaciones entre los distintos parámetros evaluados

Las correlaciones entre los distintos parámetros (marcadores inmunológicos, criterios diagnósticos, severidad, comorbilidades, nefritis lúpica, indicadores terapéuticos, *GSTM1*, *GSTT1*) fueron determinadas en los 46 pacientes. Estas correlaciones se establecieron a través del coeficiente de correlación Pearson, observándose correlaciones positivas y negativas (valores de $p < 0.05$) entre los distintos parámetros evaluados, de acuerdo a los tamaños de las correlaciones (r).

Al realizar el análisis se hallaron correlaciones positivas entre la escala de severidad SLEDAI con la presencia anticuerpos AntiDNA, la clase de nefritis lúpica y los ciclos de ciclofosfamida, así como el micofenolato con la clase de nefritis lúpica (clase 3 +4) (Tabla 5)

Tabla 5. Correlaciones positivas entre los distintos parámetros evaluados en las pacientes con LES

Correlaciones	r	P	Interpretación
Severidad SLEDAI con Anti-DNA	.247	0.049	Positiva
Severidad SLEDAI con Clase de Nefritis	.339	0.11	Positiva
Severidad SLEDAI con Ciclos de Ciclofosfamida	.256	0.043	Positiva
Micofenolato con Clase de Nefritis	.336	0.011	Positiva

Fuente: Datos propios de la investigación (Garrido, Fernández, Rojano; 2017)

Igualmente, se observaron correlaciones negativas entre la escala de severidad

SLEDAI con la presencia anticuerpos ANA, la presencia de anticuerpos ANA con la presencia de anticuerpos anti-DNA, con la clase de nefritis y con los ciclos de ciclofosfamida. Otras correlaciones negativas observadas fueron la presencia de anticuerpos ANCA con enfermedad renal y con micofenolato, y finalmente, la respuesta al tratamiento con GSTT1 (Tabla 5)

Tabla 5. Correlaciones negativas entre los distintos parámetros evaluados en las pacientes con LES

Correlaciones	<i>r</i>	<i>p</i>	Interpretación
Severidad SLEDAI con ANA	-.383	0.004	Negativa
ANA con anti-DNA	-.330	0.013	Negativa
ANA con Clase de nefritis	-.424	.002	Negativa
ANA con Ciclos de Ciclofosfamida	-.328	.013	Negativa
ANCA con Enfermedad Renal Crónica	-.297	0.022	Negativa
ANCA con Micofenolato	-.305	0.020	Negativa
Respuesta al tratamiento con GSTT1	-.327	0.013	Negativa

Fuente: Datos propios de la investigación (Garrido, Fernández, Rojano; 2017)

DISCUSION

El estrés oxidativo, definido como el desbalance entre la producción y neutralización de especies reactivas de oxígeno (ROS), está implicado en el desarrollo del LES. En células y tejidos sanos más del 90 % del glutatión total está en forma reducida (GSH) y menos del 10 % existe en la forma oxidada (GSSG). La relación GSH / GSSG es una herramienta valiosa para definir el estrés oxidativo, por lo tanto, los cambios en esta relación parece correlacionarse con la actividad de la enfermedad en pacientes con LES. La disminución de la concentración de glutatión intracelular se ha asociado con disfunción inmune (Activación de células T, desequilibrio de citoquinas Th1 / Th2 y desregulación de la apoptosis) y daño a órganos (nefritis, SNC) en LES. Además, la reposición del glutatión intracelular se ha asociado con disminución de los niveles de autoanticuerpos y el desarrollo de la nefritis, prolongando la supervivencia

de los ratones, mientras que en pacientes con LES se ha asociado con una mejoría. Por lo tanto, el agotamiento del glutatión intracelular es un indicador de estrés oxidativo en LES y la reposición de glutatión intracelular puede atenuar las complicaciones de la enfermedad.¹³

El análisis de las características demográficas de los pacientes con LES, incluidos en el estudio hubo un predominio de pacientes mujeres (95.7%), con una edad promedio que corresponde a la 3^{era} y 4^{ta} década de la vida, lo cual es concordante con los resultados en una cohorte en Colombia¹⁴ donde el género femenino represento el (88%) realizado por Peñaranda et al.

En relación con los biomarcadores serológicos el ANA estuvo presente en todos los pacientes con un predominio del patrón difuso (37%) seguido por el moteado (21.7%) y el Anticuerpo anti-DNA en un 80% de los pacientes. Los hallazgos del ANA difieren de los obtenidos por oliva et al,¹⁵ en donde el grupo de pacientes con LUPUS que patrón predominante fue el patrón homogéneo con 33.7% y en segundo lugar lo represento el centromérico con 10.5%. En cuanto a la proporción de positividad del anticuerpo anti – DNA en el presente estudio se obtuvo un valor mayor, en comparación con el estudio realizado por Zeineb Z et al,¹⁶ donde el anticuerpo anti - DNA positivo represento un 56%. En cuanto a los criterios se aplicó los criterios de SLICC 2012 y ACR 1997, encontrándose positivos en más del 60 % cuando se aplicaron los criterios de SLICC en comparación con un 30 % para el ACR, esto concuerda con Pons-Estel y Wojdyla,¹⁷ quienes mostraron que los criterios diagnósticos de 2012 tienen mayor sensibilidad y especificidad, siendo validados en la población latinoamericana.

Las comorbilidades no relacionadas con el LUPUS, representan retos en la atención médica de este grupo de pacientes y algunas no difieren del comportamiento general, para lo cual cabe citar el estudio observacional retrospectivo¹⁸ donde describen como las cinco comorbilidades más descritas proporcionalmente fueron la fibromialgia, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, ansiedad y depresión. Contrariamente el grupo de pacientes del actual estudio evidencio que la Hipertensión

arterial constituyo la principal comorbilidad referida, seguida por depresión, hipotiroidismo dislipidemia y diabetes. En relación con la presentación de las clases de nefritis lupica las dos formas más frecuentes fueron clase III y IV que coincide con el estudio de Fulgeri ⁽¹⁹⁾ y cols.

Al analizar la frecuencia de los genes *GSTM1* y *GSTT1* en los pacientes con LES, se observó que el 100% de los pacientes presentaban el gen *GSTM1* y 93,5% el gen *GSTT1*, contrastando con el estudio de Salimi et al ²⁰, quienes mostraron una correlación entre la ausencia de los genes *GSTM1* y *GSTT1* y la patogénesis del LES. Esta diferencia puede explicarse, en primer lugar, por la diferencia de étnicas entre las poblaciones estudiadas y que la población venezolana ha sido resultado de un fuerte proceso de mestizaje. Kang y El- Soheemy ²¹ describieron en población de Corea la ausencia de correlación entre la eliminación de dichos genes y la susceptibilidad al LES, sin embargo, lograron demostrar que los pacientes sin los genes *GSTM1* y *GSTT1* tenían alto riesgo de desarrollar nefritis lúpica y rash discoide. Sin embargo, en la literatura consultada la asociación entre la eliminación del gen *GSTM1* y *GSTT1* no está del todo dilucidada, Shilong et al ²² realizaron un estudio en población China, con más de 100 pacientes con LES, con la finalidad de determinar la respuesta a ciclofosfamida y los polimorfismo de eliminación de los genes *GSTM1* y *GSTT1*, sumado al polimorfismo 105/v en el gen *GSTP1*, con el objetivo de determinar la asociación entre la ausencia de estas enzimas y la expresión de xenobióticos y aumento de reacciones adversas a ciclofosfamida. Observándose, una asociación estadísticamente significativa con el gen *GSTP1*, pero no con los genes *GSTM1/T1*. Así mismo Zhang et al ²³, evaluaron la asociación entre los polimorfismos *GSTT*, *GSTM1* y *CYP1A1*, responsables en parte del efecto antioxidante a nivel celular, y susceptibilidad a LES, observando la relación entre el riesgo de desarrollar LES y el genotipo *GSTM1*, sin embargo, no se observó una asociación entre la doble eliminación *GSTT1- GSTM1-* y LES, explicando en parte la influencia que tiene las diferencias en la discrepancia de resultados en distintas poblaciones.

La etiopatología del LES no está del todo dilucidada, inclusive factores ambientales en adición a predisposición genética pueden condicionar esta patología. En un meta-análisis realizado por Lichun L, Meihua G (2015) ²⁴, evaluaron la asociación entre los polimorfismos de *GSTT1* y *GSTM1* con LES, observándose que la ausencia del gen *GSTM1* estaba asociado con LES en el este de Asia, pero no así en europeos y africanos. Sin embargo, al analizar el polimorfismo de eliminación del gen *GSTT1* no se observó una asociación en todas las poblaciones.

Sin embargo, a pesar de la ausencia de asociación entre los polimorfismos de eliminación de los genes *GSTT1* y *GSTM1* con LES, no se descarta que en nuestra población otros polimorfismos, diferentes a los subtipos Mu y Teta, pudiesen estar implicados en la patogénesis de dicha entidad, considerando que la progresión del LES puede ser debido al estrés oxidativo, específicamente a través de especies reactivas de oxígeno, condición común que refleja un desbalance entre la especies reactivas de oxígeno y el sistema antioxidante.

Con respecto a las combinaciones de estos genes, solo se observaron dos de las cuatro combinaciones posibles, en contraste al estudio de Salimi et al ²⁰, quienes observaron las cuatro combinaciones. Asimismo, no se observó asociación entre los genotipos *GST* combinados y LES, en contraste con el mencionado estudio quienes describieron que la combinación *GSTM1*-/*GSTT1*- con los genotipos Val/Ile o Ile/Ile de *GSTP1* incrementaban el riesgo de LES. Finalmente, al comparar los pacientes sin el gen *GSTT1*, clasificados en antiDNA positivos y antiDNA negativos, no se observaron diferencias significativas.

La respuesta a ciclofosfamida en los pacientes con LES, en términos generales es buena, logrando en su gran mayoría la remisión y control de la enfermedad, con escasas manifestaciones secundarias. Esto puede explicarse por la presencia de los genes *GSTT1* y *GSTM1* en la población de estudio, los cuales pueden conservar su efecto antioxidante y disminuir las especies reactivas de oxígeno, y otras sustancias derivadas del metabolismo de las mostazas nitrogenadas. Lo que pudiese sugerir que los pacientes con los genes *GSTT1* y *GSTM1* son respondedores a esta terapia.

Es indudable la compleja interacción de los múltiples factores genéticos y ambientales en la patología de esta compleja entidad, la comprensión de las exposiciones a xenobióticos, su metabolismo endógeno y la variabilidad de múltiples loci involucrados en actividad antioxidante, orienta la etiología y, por lo tanto, su terapéutica oportuna, expresado esto último en una mejor calidad de vida para el paciente.

CONCLUSIONES

1. La presencia y/o ausencia de los genes *GSTM1* y *GSTT1* no está asociado con la respuesta al tratamiento con ciclofosfamida, la presencia de anti-DNA y progresión de LES.
2. Otros polimorfismos de los genes de la súper-familia de GST pudiesen estar involucrados en el desarrollo y progresión de LES, la respuesta a tratamiento y la presencia de autoanticuerpos.

REFERENCIAS

1. Yu C, Gershwin M, Chang C. Diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus: a critical review. *J Autoimmun.* 2014 Feb-Mar;48-49:10-3
2. Ghodke-Puranik Y, Niewold TB. Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2015 Nov; 64:125-36.
3. Hong-Na W, Xiao-Ye Z., Ying Z., Qiong-Hong X., Lin-Yun L., Miao Zhao, Yuan-Cheng C., Jun X., et al, The *GSTA1* polymorphism and cyclophosphamide therapy outcomes in lupus nephritis patients, *Clinical Immunology* (2015), doi: 10.1016/j.clim.2015.07.010).
4. Hans-Joachim L, Agnes F Immunopathology of Lupus Nephritis. *Semin Immunopathol.* 2014 Jul;36(4):443-59.
5. Lisnevskaja L, Murphy G., Isenberg D Systemic Lupus Erythematosus. *Lancet* 2014; 384: 1878–88
6. Dilip S., Nidhi M., Sangita S., Swapan K N., Bishnuhari P. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus Shah et al. *Journal of Biomedical Science* 2014, 21:23.

7. Andras P Oxidative stress in the pathology and treatment of systemic lupus erythematosus *Nat Rev Rheumatol.* 2013 November; 9(11): 674–686. doi:10.1038/nrrheum.2013.147.
8. Pinheiro D, Rocha Filho C, Mundim C, Júnior M, Ulhoa C, Reis A, Ghedini P. Evaluation of glutathione S-transferase *GSTM1* and *GSTT1* deletion polymorphisms on type-2 diabetes mellitus risk. *PLoS One.* 2013 Oct 3; 8(10):e76262.
9. Petri M, Orbai A, Alarcón G, Gordon C, Merrill J, Fortin P. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012 Aug;64(8):2677-86
10. Bunce M. PCR-SSP typing in histocompatibility testing. Bidwell and Navarrette C. Imperial Collage Press, London. 2000: 149-186
11. Gogtay N, Thatte U. Principles of Correlation Analysis. *J Assoc Physicians India. Statistics for Researches.* 2017: 65, 78-81.
12. Weening JJ, D'Agati VD. The Classification of Glomerulonephritis in Systemic Lupus Erythematosus Revisited. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:241-50.
13. Shah, D., Mahajan, N., Sah, S. et al. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Sci* 21, 23 (2014). <https://doi.org/10.1186/1423-0127-21-23>.
14. Peñaranda L, Mercado I, Caballero V, Márquez J, Velásquez C. Factores de riesgo predictores de falla a la terapia de inducción de nefritis lúpica en una cohorte de pacientes colombianos. *Reumatol clin.* 2014; 10 (3) 147 – 151.
15. Oliva J, Arroyo J, Oliva J, García M. Patrones de tinción de anticuerpos antinucleares identificados por Inmunofluorescencia indirecta en pacientes con enfermedad del tejido conectivo. *Rev Med Hered.* 2019; 30:33-39.
16. Zeineb Z, Mouna M, Mohamed El A, Amina B, Rajae E, Naima A, Mohcine B. Immunological and Clinical Characteristics of Systemic Lupus Erythematosus: A Series from Morocco. *Biomed Res Int.* 2018: 3139404.
17. Pons-Estel G, Wojdyla D, McGwin G, Magder L, Petri M, Pons-Estel B, Alarcón G. The American College of Rheumatology and the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus in two multiethnic cohorts: a commentary. *Lupus.* 2014; 23(1):3-9.
18. Nyman E, Vaughan T, Desta B, Wang X, Barut V, Emma C. Characteristics and Symptom Severity of Patients Reporting Systemic Lupus Erythematosus in the PatientsLikeMe Online Health Community: A Retrospective Observational Study. *Rheumatol Ther.* 2020 Mar; 7(1): 201–213.
19. Fulgeria C, Carpio D, Ardile L. Lesiones renales en el lupus eritematoso diseminado: ausencia de relación entre datos clínicos e histológicos. *Nefrología* 2018; 38(4):386–393.

20. Salimi S, Nakhaee A, Jafari M, Jahantigh D, Sandoogh M, Zakeri Z, *et al.* Polymorphisms and risk of systemic lupus erythematosus. *Iran J Public Health* 2015; (44): 812-821
21. Kang, Sohegy A, Cornelis M, Eny K, Bae S. Glutathione S-transferase genotype and risk of systemic lupus erythematosus in Koreans. *Lupus* (2005) 14, 381-384.
22. Shilong Z, Huang M, Yang X, Liang L, Wang Y, Romkes M, *et al.* Relationship of glutathione S-transferase genotypes with side-effects of pulsed cyclophosphamide therapy in patients with systemic lupus erythematosus. *Br J Clin Pharmacology* 2006 62:4 457–472.
23. Zhang J, Deng j, Zhang C, Lu Y, Liu L, Wua Q, *et al* Association of GSTT1, GSTM1 and CYP1A1 polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in the Chinese population. *Clinica Chimica Acta* 411 2010 878–881.
24. Lechun L, Dongyun L, Nong X, Guo M, Ma j, He L. The Null Polymorphism of the GSTM1/T1 Gene Is Not Associated with Susceptibility to Systemic Lupus Erythematosus: A Meta-Analysis. *Mol Diagn Ther* 2015 19:65–6.