

Título. Genes humanos involucrados en la patogénesis de la infección por dengue

Autores Principales: Dra. Beatriz Sierra Vázquez. (i), Lic. Gissel García Menéndez (i) y Dra. Ana B. Pérez Díaz (i). Otros Autores: Eglis Aguirre (i), Maria G. Guzman (i), Mayling Alvarez (i), Luis Valdés (ii), Lizet Sanchez (i), Ileana Rosado (iii), Alienys Izquierdo (i), Beatriz Marcheco (iii), Rosmary Rodríguez (i), Maritza Pupo (i), Narjara González (i). Colaboradores: Maria E. Galano (ii), Adriana Rodríguez (ii), Jorge Sang (ii), Cecilia I. Falcón (ii), Carlos Mederos (i), Alberto Cabrera (i).

Unidad ejecutora principal: Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”, (IPK) (i)

Unidades colaboradoras: Centro Provincial de Higiene y Epidemiología Santiago de Cuba (ii) y Centro Nacional de Genética Médica (iii)

Premio en la instancia nacional del Concurso Premio Anual de La Salud 2012

Resumen

La infección por dengue se ha convertido en un problema de salud a nivel mundial y su etiopatogenia aún se mantiene sin esclarecer totalmente. La infección puede ir desde una forma asintomática a una forma grave denominada Fiebre Hemorrágica del dengue/Síndrome de Choque por dengue (FHD/SCD), o forma que evoluciona con extravasación de plasma hacia los espacios intersticiales, hemoconcentración, trombocitopenia, y manifestaciones hemorrágicas. La evolución clínica está estrechamente vinculada a factores genéticos del hospedero. Este trabajo presenta nuevas evidencias científicas a favor de la participación de los genes de respuesta inmune en la patogénesis de la infección por dengue. Dos alelos HLA clase I, A*31 y B*15 se asociaron a la enfermedad por dengue. El alelo de mayor producción de TNF α (-308) y un haplotipo de menor producción de IL-10(-1082/-819/-592) se asociaron al dengue grave. Los resultados de la investigación realizada mostraron además, que la variante homocigótica que codifica para la histidina (HH) está asociada a la susceptibilidad al desarrollo de la fiebre hemorrágica. El presente trabajo brinda nuevos datos que contribuyen al esclarecimiento de los mecanismos inmunopatogénicos de la enfermedad por dengue y contribuye al diseño y evaluación de candidatos vacunales.

Palabras Claves: dengue, genética, patogénesis, respuesta inmune

Introducción

La respuesta inmune humoral a una infección primaria por un determinado serotipo de virus dengue origina anticuerpos neutralizantes, capaces de proteger al individuo contra el virus homólogo y, en menor medida, contra serotipos heterólogos. Durante una infección secundaria se formarían IC cuyos anticuerpos serían menos eficientes en la neutralización de la partícula viral. Estos IC, serían internalizados, por las células del sistema fagocítico mononuclear (monocitos y macrófagos), al interactuar con los receptores Fc- γ tipo I (CD64) y II (CD32) en ellas presentes. Se favorecería, de esta manera, la diseminación viral, ya que estos IC entran a las células hospederas más rápido que los viriones no acomplexados. Este fenómeno es conocido como la Amplificación dependiente de anticuerpos (ADA).

Varios son los autores que le atribuyen también un importante papel en la patogenia de la FHD a los linfocitos T de memoria CD4 y CD8 de reactividad cruzada, generados tras la infección primaria con un serotipo diferente del causante de la infección secundaria a través de la inducción de la expresión de moléculas HLA clase I y II por el IFN γ (1-4). El aumento del IFN γ resulta de un incremento de monocitos infectados por el virus dengue que puede ocurrir a través de un mecanismo de amplificación dependiente de anticuerpos. La activación de células T resulta en la producción de niveles elevados de citoquinas, las cuales a su vez inducen la producción de otras citoquinas. Esta cascada de producción de elevados niveles de citoquinas en un corto periodo de tiempo induce disrupción de las células endoteliales vasculares, desregulación del sistema de hemo-coagulación, y en consecuencia, extravasación de plasma, choque y manifestaciones hemorrágicas. Otro fenómeno involucrado en la patogenia de la FHD es la Amplificación dependiente de anticuerpos, donde Teniendo en cuenta el papel central de los mecanismos inmunológicos en la patogénesis de la FHD, nosotros pensamos que los genes asociados con la respuesta inmune, altamente polimórficos, deben ser ciertamente considerados entre aquellos genes humanos reguladores de la severidad de la enfermedad por dengue que pudieran estar distribuidos desigualmente.

Los genes HLA se encuentran entre aquellos que pudieran estarse expresando de forma diferenciada en los diferentes grupos poblacionales, modificando los eventos de la respuesta inmune efectora a virus dengue, aún más si se considera que el reconocimiento de los antígenos por el linfocito T, en el contexto de las moléculas codificadas por los genes HLA, está al centro de la generación y regulación de la respuesta inmune y determina la individualidad de esta respuesta.

El alto grado de polimorfismo observado en los genes del complejo principal de histocompatibilidad (del Inglés MHC, Major Histocompatibility Complex, también conocido como HLA, Human Leucocyte Antigens), al compararse con otras regiones del genoma humano es evidencia de la marcada presión selectiva que un agente infeccioso puede ser. La región MHC codifica varias proteínas involucradas en la respuesta inmune, incluyendo el complemento y el TNF α . El complejo MHC propiamente determina el reconocimiento por los linfocitos T, evento que tiene un papel central en la generación y regulación de la respuesta inmune, y determina la individualidad de la misma (5). La variación del sistema MHC se ha asociado a diversas enfermedades virales, incluyendo la progresión lenta a paciente con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), en el caso del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y la resistencia a ser portador de hepatitis B (6, 7).

Los receptores Fc juegan un importante papel en la respuesta inmune a muchas infecciones incluyendo dengue 6. El Fc γ RIIa (CD32), el más variado y distribuido dentro de los receptores de la familia Fc, está expresado en la mayoría de la células hematopoiéticas y provee de esta manera un importante puente entre al respuesta inmune humoral y celular . Este receptor es de baja afinidad y es capaz de unir los subtipos de IgG de la 1-4 con diferente afinidad, dado por una mutación en la posición 131 del gen que codifica para el aminoácido arginina (R) o histidina (H). Se plantea que la homocigocis para la arginina Fc γ RIIa -R/R131 une con mayor afinidad las subclases IgG1/3 en cambio la variante Fc γ RIIa -H/H131 interactúa eficientemente con la IgG28, 9, 10. Luego, el polimorfismo del receptor Fc γ RIIa pudiera ser relevante en su función implicando una variabilidad en la respuesta inmune y , en consecuencia, en el desarrollo de la patogenia del dengue.

En contraste con otros países, caracterizados por la co-circulación de varios serotipos, Cuba representa un escenario excepcional para realizar estudios genéticos de resistencia/susceptibilidad a FHD, al contar con marcadores serológicos y clínicos bien conocidos, en una población con una historia única de epidemias por dengue (8, 9) De manera particular cada brote de dengue en Cuba ha permitido la identificación de los determinantes asociados con una infección particular de dengue, dado que la población ha estado expuesta a idénticas exposiciones previas a virus dengue en cada brote (10). Por todo lo anterior nosotros estudiamos el polimorfismo de genes HLA A, B clase I y HLA DRB1 clase II, en individuos cubanos con antecedentes de de FD o FHD en el curso de infecciones primarias y secundarias por dengue 2, en el curso del el brote ocurrido en 1977 en Santiago de Cuba.

La selección del municipio de Santiago de Cuba para el estudio de susceptibilidad genética a dengue no fue casual. La epidemia ocurrida en Santiago de Cuba en 1997 fue excepcionalmente bien estudiada y caracterizada. La experiencia acumulada de doctores y científicos cubanos y el conocimiento internacional sobre dengue acumulado en las décadas precedentes permitieron un estudio mucho más profundo y comprensivo de esta epidemia, con una clasificación y manejo mucho más certero que en las epidemias cubanas de dengue precedentes (11-14).

Material y métodos

Universo de Estudio

El estudio de genes HLA incluyó 120 individuos de Santiago de Cuba con antecedentes de enfermedad por dengue durante la epidemia de dengue 2 de 1997, 77 con antecedentes de FD y 43 con antecedentes de FHD e incluyó como controles a 189 individuos sanos, no emparentados (ni entre ellos ni con los casos) pareados étnica y geográficamente. Kourí" (IPK). El estudio de genes del receptor FcγRIIIa incluyó a un total de 139 individuos adultos con antecedentes de infección por DEN4 (epidemia por DEN4 ocurrida en el año 2006). Los mismos fueron clasificados como FD (68 casos clínicos), FHD (29 casos clínicos) y Asintomáticos (42 individuos) todos con infección secundaria. El estudio del polimorfismo genético de citoquinas TNF α , el IFN γ y la IL-6, y como genes de citoquinas anti-inflamatorias la IL-10 y el TGF β 1 involucró 43 individuos con antecedentes de FHD durante la epidemia de DEN 2 de Santiago de Cuba, en 1997, en el transcurso de una infección secundaria (Den1/Den2), y 99 controles (donantes de banco de sangre, étnica y geográficamente equivalentes).

Todos los individuos involucrados en el estudio fueron adultos en un rango de edades de 19 a 81 años de edad.

Colección de la muestra

Para este ensayo se colectaron 20 ml de sangre venosa periférica de los individuos participantes del estudio. Esta muestra se obtuvo por punción cubital del antebrazo por personal paramédico bien entrenado. Para la colección de la muestra se utilizó un tubo de extracción al vacío por individuo, con citrato de sodio como anticoagulante. Cada una de las muestras se rotuló adecuadamente

III.3.3 Clasificación de los casos en primarios o secundarios

Para determinar el número de infecciones por dengue padecida por los individuos incluidos en el estudio (primario: 1 sola infección, secundario: 2 infecciones) se utilizó el método de neutralización por reducción del número de placas simplificado descrito por Morens y Halstead en 1985 para virus dengue en células BHK21 (15).

Obtención del ADN genómico

El ADN genómico fue extraído del plasma utilizando un estuche comercial de extracción de ADN (QIAmp DNA Blood mini kit, QIAGEN, Santa Clarita, CA, USA), siguiendo las recomendaciones de los productores.

Tipificación de genes HLA clase I y II

Un estuche comercial de RCP de baja resolución de cebadores específicos de secuencia (PCR-SSP) fue usado para tipificar los alelos HLA A, B y C (Micro SSP HLA DNA Typing Trays (cat. Num. LSSP1L; One Lambda, Canoga Park, CA, USA) de acuerdo a las instrucciones de los productores.

Tipificación de genes R-FcγIIa

Para la determinación del polimorfismo asociado al R-FcγIIa se estandarizó, en nuestras condiciones, el protocolo propuesto por Basilio y colaboradores en el 2004 empleando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés polymerase chain reaction) para ampliar la región genética de interés. La reacción por PCR amplificó la porción de 1kb correspondiente al gen FcγIIa, en la cual están contenidos el exón 4 y parte del exón 5 separados por un intrón. La reacción utilizó como cebador sentido el P63 (5'-CAAGCCTCTGGTCAAGGTC) y antisentido FcRII-3' (5'-CAATGACCACAGCCACAA TC). A esta fase se le denominó PCR1. El producto obtenido se empleó en una reacción de amplificación anidada utilizando los cebadores sentido específicos: 494A (5'-ATTCTCCCATTTGGATC) y 494G (5'-ATTCTCCCGTTTGGATC) y el cebador antisentido P52 (5'-GAAGAGCTGCCCATGCTG). La reacción de amplificación fue denominada como PCR2 y PCR3, respectivamente.

Tipificación de genes de las citoquinas

Se determinaron los polimorfismos puntuales (SNP, del inglés single nucleotide polymorphism) en los genes o sus promotores correspondientes a cinco citoquinas: TNF-α (-308 A/G), IFN-γ (+874A/T), TGF-β1 (codón 10 T/C y codón 25 G /C), IL- 10 (-1082 A/G, -819 C/T, -592 A/C), IL-6 (-174 G/C). El genotipaje se realizó con el empleo de un ensayo de RCP con cebadores específicos de secuencia (PCR-SSP: del inglés polymerase chain reaction with sequence specific primers) mediante el uso del estuche comercial One Lambda

(Cytokine Genotyping Tray, de One Lambda, Inc.; EE.UU). Los alelos, genotipos y haplotipos fueron clasificados en altos productores o bajos productores, de acuerdo a reportes previos.

Análisis Estadísticos

Todos los resultados fueron analizados con el programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versión 11.5, SSPS Inc, Chicago, Ill; EE.UU.). La comparación entre los grupos de pacientes y controles se realizó mediante el test Chi-cuadrado (X^2) de Pearson y el valor de P fue corregida por corrección de Yates (P_c). Fueron calculados los Odds ratio (OR) como estimado del riesgo, e intervalos de confianza de 95% (95% IC). Un OR de <1 fue indicativo de protección, mientras un OR >1 lo fue de riesgo aumentado.

Resultados y Discusión

HLA-A, -B, -C, and -DRB1 allele frequencies in Cuban individuals with antecedents of dengue 2 disease: advantages of the Cuban population for HLA studies of dengue virus infection.

Al comparar las frecuencias de los alelos HLA-A entre los los individuos con antecedentes de FD y FHD con los controles se observó una frecuencia significativamente mayor para el alelo HLA 31 en los casos (X^2 : 25.62, $P=0.000001$, $P_c=0.000004$, OR:13.39, IC (95%): 3.63-53.75) (Tabla 3).

El análisis de la homocigosis para este alelo mostró que este rasgo está significativamente asociado al riesgo de desarrollar enfermedad por dengue (X^2 : 12.98, $p=0.0003$, $pc=0.0005$, OR=3.84 IC 95%:(1.67-9.12) Esto podría indicar que este alelo condiciona un reconocimiento antigénico en el contexto de las moléculas HLA clase 1 que conlleva una respuesta citotóxica de linfocitos CD8 deficiente contra las células infectadas por el virus, y por ende una mayor predisposición al desarrollo de la enfermedad.

Las frecuencias de los alelos HLA-B coincidieron entre casos y controles con la excepción de HLA-B*15, el cual resultó significativamente mayor en los casos con antecedentes de enfermedad por dengue (X^2 : 16.28, $P=0.00005$, $P_c=0.0002$, OR:4.46, IC95%: 1.96-10.29) (Tabla 3). El analisis de la expresión homocigótica para B15 mostró que el riesgo de enfermar por dengue aumenta considerablemente con la doble expresión de este alelo (X^2 : 45.49, $P=0.0000000$, $P_c=0.0000000$, OR=26.26, IC95%: 6.25-156.41). El reconocimiento de epitopes antigénicos similares por la molécula HLA codificada por genes del grupo alélico B*15 puede condicionar una respuesta CTL insuficiente que redunde en una mayor

propensión a las infecciones por flavivirus. Tanto en el grupo de controles como en el de los individuos con historia de enfermedad por dengue predominaron los mismos alelos HLA-C. Los alelos HLA DRB1*07 y HLA DRB1*04 fueron encontrados significativamente más frecuentes en controles que en los casos ($P=0.0009$, $P_c=0.009$ y $P=0.001$, $P_c=0.01$, respectivamente).

Loke y cols. (2001) demostraron en población Vietnamita la asociación de genes del locus HLA-A con la susceptibilidad a FHD. Mas recientemente se encontró la asociación de alelos HLA clase I con la evolución clínica en pacientes con DEN tailandeses, así como genes HLA clase II del locus DRB1 (Stephens y cols. 2002). Por su parte, DRB1*04 también se asoció antes a protección por Lafleur y cols. (2002). Se identificaron a través de algoritmos de predicción (BIMAS y SYFPEITHI) péptidos de proteínas del virus DEN2 que circuló en la epidemia de Santiago de Cuba, que potencialmente se unen a las moléculas HLA I B15 y A31 para reconocer epítopes posiblemente reconocidos por células T CD8+ asociados a la patogenia de la enfermedad.

En el presente estudio se demostró una frecuencia significativamente aumentada de los alelos A*31 y B*15 HLA clase I en pacientes de dengue cubanos con respecto a los controles. Por su parte, se encontró una asociación de los genes HLA II DRB1*07 y DRB1*04 con los controles, sugiriendo que estos pudieran ser alelos de resistencia a enfermedad.

Estos resultados demuestran que ciertas moléculas HLA están asociadas al riesgo de padecer la enfermedad por dengue. Sin dudas un candidato vacunal eficaz contra el dengue ha de garantizar una máxima protección y minimizar la inmunidad heteróloga a través de la inducción de una respuesta inmune de memoria. A raíz de nuestros resultados, los epítopes proteicos del HLA Clase I asociados con la enfermedad clínica por dengue serían ejemplos a excluir en el diseño de un candidato vacunal. Esto se traduce en un ahorro del tiempo y el costo requerido en el desarrollo de la vacuna. De ahí que se hace necesario, al menos para el desarrollo de vacunas en la enfermedad por dengue, estimular las investigaciones que exploren determinantes genéticos.

Asymptomatic dengue infection in a Cuban population confirms the protective role of the RR variant of the FcγRIIIa polymorphism.

El fenotipo HH 131 se encontró con frecuencia significativamente elevada ($p= 0.008$) en aquellos individuos que habían padecido la infección clínica FHD (44.8%), FD (25.0%) con respecto al grupo con antecedentes de infección Asintomática (7.1%) (Tabla 5). Para determinar el riesgo asociado a cada variante genética, individuos homocigóticos para un alelo se compararon con el resto de los

individuos (heterocogóticos + homocigóticos del otro alelo). El análisis demostró que con respecto al grupo de infección asintomática, el genotipo HH 131 fue asociada al desarrollo de la FHD (OR= 10.56, 95% Intervalo de Confianza –IC- 2.33-54.64; p=0.00018) con tendencia similar observada para la FD (OR= 4.33, 95% CI 1.08-20.10; p=0.018).

El análisis de la frecuencia alélica no mostró diferencias significativas entre los individuos con antecedentes de manifestaciones clínicas ($\chi^2 = 0.59$ p=0.44). Sin embargo, al incluir al grupo con antecedentes de infección asintomática encontramos diferencias estadísticamente significativas con respecto a aquellos que desarrollaron clínica ($\chi^2 = 10.92$ p=0.004, Tabla 6). Como muestra la tabla 6 la presencia del alelo H fue predominante en los individuos con antecedentes de FHD y FD con respecto al grupo asintomático (FHD: OR = 3.10 95% IC 1.46-6.62; p=0.001; FD: OR= 1.9 95% IC 1.04-3.47; p=0.025).

Nuestros resultados, basados en una población de adultos epidemiológica y clínicamente bien caracterizada con los cuadros de FD, FHD e infección asintomática, confirmó la asociación de la variante homocigótica HH con la susceptibilidad a padecer la enfermedad por dengue. Considerando los resultados obtenidos en nuestro estudio y teniendo en cuenta las observaciones previas (Van de Winkel y Capel, 1993), (van Sorge, van der Pol y van de Winkel, 2003), (García y Rosales , 2002), (Israelsson y cols., 2008), (Forthal y Moog , 2009) nosotros hipotetizamos que individuos homocigóticos para la histidina, Fc γ RIIa-H/H131, unen ineficientemente los inmunocomplejos VD-IgG1/3 teniendo lugar tras esta unión la generación ineficiente de la fusión lisosomal con la subsiguiente evasión al sistema proteolítico celular. De esta manera se favorecería el fenómeno del ADA y con ello la diseminación del virus (Moi y cols, 2010). Hasta donde sabemos, este es el primer trabajo que estudia el polimorfismo genético del receptor Fc γ RIIa en una población con infección asintomática reportando que la variante genotípica Fc γ RIIa-H/H131 está asociada a la susceptibilidad. El polimorfismo del promotor del gen de TNF α (-308) mostró una asociación del alelo A a la FHD (OR=3.51, CI=1.77-7.00, pc=0.0001) (Tabla 5). Sin embargo, en el grupo control se constató una mayor frecuencia de portadores del genotipo -308 GG (OR=0.35, CI=0.16-0.75, pc=0.01); mientras el grupo de FHD mostró una mayor distribución de los genotipos AA y AG (Tabla 7). Anteriormente Fernandez-Mestre y cols. demostraron la asociación entre el alelo A del TNF α (-308) de pacientes de FD con la aparición de manifestaciones hemorrágicas en población venezolana (Fernandez-Mestre y cols., 2004). La asociación encontrada entre el alelo de alta expresión de TNF α A (-308) y la FHD apoya el papel patogénico de esta citoquina en la infección por DEN.

Otra citoquina proinflamatoria e importante inmunomoduladora asociada a la patogénesis del DEN grave es el $IFN\gamma$. A pesar de que observamos en nuestro estudio que el alelo T y genotipo TT de alta expresión de esta citoquina (+874) predominó en el grupo de pacientes de FHD, no se observaron diferencias significativas entre este grupo y el control.

Con respecto a la IL-6, la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas del gen (-174) tampoco mostraron diferencias significativas entre pacientes de FHD y los controles poblacionales (Tabla 7).

Al analizar las frecuencias génicas de las citoquinas anti-inflamatorias encontramos que los alelos y genotipos del promotor del gen de la IL-10 para los tres puntos polimórficos estudiados (-1082, -819, -592) no difirieron significativamente entre los grupos de pacientes de FHD y los controles (Tabla 7). Sin embargo, el análisis haplotípico de la combinación de estos tres puntos polimórficos demostró que el haplotipo ACC/ATA, previamente asociado a baja expresión de esta citoquina (Turner y cols., 1997), fue significativamente más frecuente en FHD que en los controles (OR=2.54, CI=1.12-5.73, $p = 0.02$) (Tabla 8).

En pacientes de la propia epidemia de Den 2 (Santiago de Cuba, 1997) encontramos niveles aumentados de IL-10 asociados a infección secundaria y una peor evolución clínica en los pacientes (Perez y cols., 2004). Sin embargo, es importante dilucidar si esos niveles aumentados son una causa primaria de enfermedad o reflejan un efecto de regulación secundario a una exacerbación inflamatoria previa. Los estudios genéticos tratan de dilucidar la interrogante acerca del papel de la citoquina en la enfermedad. De esta forma los resultados sugieren que una insuficiente expresión de IL-10 en la infección secundaria por DEN (al menos para la secuencia de infecciones DEN 1/ DEN2) pudiera estar asociada a una ineficiente regulación inmune.

En el polimorfismo del gen $TGF\beta 1$ (c10 / c25) no se constataron diferencias significativas entre estos en el codón 10 del gen, sin embargo, en el codón 25 se hallaron diferencias estadísticamente significativas, siendo el alelo G y el genotipo GG con mayor representación en el grupo de los Controles ((OR=0.38, CI=0.21-0.69, $p=0.002$) y (OR=0.34, CI=0.15-0.76, $p=0.01$) respectivamente). Esta citoquina ha sido vinculada por otros autores a gravedad y fue detectada de forma significativa su expresión en tejidos de órganos de fallecidos por nuestro grupo. Sin embargo, asociamos su papel a una función tardía en la hipoxia y la fibrosis de los tejidos en el paciente en choque. Esto se sustenta al encontrar que individuos predispuestos genéticamente a producir niveles menores de $TGF\beta 1$, tienen más riesgo de

desarrollar el DEN severo, lo cual apoya la importancia de este mediador como inmunoregulador, involucrado en el control de la inflamación.

Chen y cols. encontraron una asociación del polimorfismo del promotor del gen de TGF β 1 (-509 C/T) con la susceptibilidad a FD en población de Taiwán (Chen y cols., 2009).

En nuestro estudio se analizó además el riesgo que tiene un individuo con un patrón genético de citoquinas determinado, a padecer la FHD. Para ello se estudiaron las combinaciones definidas de variantes génicas para las diferentes citoquinas lo cual se realizó mediante un análisis univariado de tabla de contingencia 2x2. Como se observa en la Tabla 9, el portar combinaciones de variantes génicas de alta expresión de TNF α e IFN γ con baja expresión de IL-10 y TGF β 1, va sumando significación estadística a la asociación llegando a tener 7.1 veces más riesgo el individuo alto productor de TNF α e IFN γ y bajo productor de IL-10 ($p=0.000$).

Este análisis multigénico sugiere la importancia del equilibrio entre citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias para lograr una respuesta inmune capaz de controlar la infección en el individuo evitando los daños inmunopatológicos propios de la FHD.

En el presente estudio se proporcionan nuevas evidencias del papel de las citoquinas TNF α , TGF β 1 e IL-10 en la patogénesis del DEN.

Conclusiones

Los alelos HLA clase I, A*31 y B*15 se asocian a la enfermedad por DEN2 en la población cubana. La variante homocigótica que codifica para la histidina (HH) del gen de Fc γ IIa está asociada a la susceptibilidad al desarrollo de la fiebre hemorrágica, mientras que la variante homocigótica que codifica para la arginina (RR) parece asociarse a protección frente a la infección. Una mayor producción de TNF α (-308) y menor producción de IL-10(-1082/-819/-592) parece asociarse a la patogénesis de la enfermedad por DEN. La mayor producción de TGF β 1 pudiera relacionarse a la protección frente al desarrollo de la forma clínica severa por DEN. Se brindan nuevos datos que contribuyen al esclarecimiento de los mecanismos inmunopatogénicos de la enfermedad por dengue.

Referencias bibliográficas:

-Bazilio AP, Viana VST, Toledo R, Woronik V, Bonfá E, Monteiro RC, 2004. Fc gamma RIIa polymorphism: a susceptibility factor for immune complex-mediated lupus nephritis in Brazilian patients. Nephrol Dial Transplant 19: 1427-31.

- Chen, R. F., L. Wang, J. T. Cheng, H. Chuang, J. C. Chang, J. W. Liu, I. C. Lin y K. D. Yang. (2009a): Combination of CTLA-4 and TGFbeta1 gene polymorphisms associated with dengue hemorrhagic fever and virus load in a dengue-2 outbreak. *Clin Immunol* 131(3): 404-9.
- Fernandez-Mestre, M. T., K. Gendzekhadze, P. Rivas-Vetencourt y Z. Layrisse. (2004): TNF-alpha-308A allele, a possible severity risk factor of hemorrhagic manifestation in dengue fever patients. *Tissue Antigens* 64(4): 469-72.
- Forthal DN, Moog C, 2009. Fc receptor-mediated antiviral antibodies. *Current Opinion in HIV and AIDS* 4: 388-393.
- García E, Rosales C, 2002. Signal transduction during Fc receptor-mediated phagocytosis. *J Leuk Biol* 72: 1092-1108.
- Holegaard, M. V. y J. L. Bidwell. (2006): Cytokines Gene Polymorphism in Human Disease: Online Database, Supplement 3. *Genes and Immunity*.
- Israelsson E, Vafa M, Maiga B, Lysen A, Berzins K, 2008. Differences in Fc gamma receptor IIa genotypes and IgG subclass pattern of anti-malarial antibodies between sympatric ethnic groups in Mali. *Malar J.* 15: 175.
- Klein J, Sato A. The HLA system *The New England Journal of Medicine.* 2000;343(10):702-9.
- Kouri, G., M. G. Guzman, L. Valdes, I. Carbonel, D. del Rosario, S. Vazquez, J. Laferte, J. Delgado y M. V. Cabrera. (1998): Reemergence of dengue in Cuba: a 1997 epidemic in Santiago de Cuba. *Emerg Infect Dis* 4(1): 89-92.
- Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2007 Sep;30(5-6):329-40.
- LaFleur C, Granados J, Vargas-Alarcon G, Ruiz-Morales J, Villarreal-Garza C, Higuera L, Hernandez-Pacheco G, Cutino-Moguel T, Rangel H, Figueroa R, Acosta M, Lazcano E, Ramos C. HLA-DR antigen frequencies in Mexican patients with dengue virus infection: HLA-DR4 as a possible genetic resistance factor for dengue hemorrhagic fever. *Hum Immunol* 2002 **63(11)**:1039-44.
- Loke H, Bethell D, Phuong CXT, Day N, White N, Farrar J, Hill A, 2002. Susceptibility to Dengue Hemorrhagic fever in Vietnam: Evidence of an association with variation in the vitamin D receptor and Fc gamma receptor IIa genes. *Am. J. Trop. Hyg* 67: 102-6.
- Loke H, Bethell DB, Phuong CX, Dung M, Schneider J, White NJ, et al. Strong HLA class I--restricted T cell responses in dengue hemorrhagic fever: a double-edged sword? *J Infect Dis.* 2001 Dec 1;184(11):1369-73.
- Moi ML , Lim CHK , Takasaki T , Kurane I , 2010 . Involvement of the Fcγ receptor IIA cytoplasmic domain in antibody dependent enhancement of dengue virus infection . *J Gen Virol* 91: 103 – 111 .
- Ollier, W. E. R. (2004a): Cytokine genes and disease susceptibility. *Cytokine* 28:174-8.
- Rothman AL. Cellular immunology of sequential dengue virus infection and its role in disease pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2010;338:83-98.
- Rothman, A. L. (2010): Cellular immunology of sequential dengue virus infection and its role in disease pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 338:83-98.
- Stephens HA, Klaythong R, Sirikong M, Vaughn DW, Green S, Kalayanaroj S, et al. HLA-A and -B allele associations with secondary dengue virus infections correlate with disease severity and the infecting viral serotype in ethnic Thais. *Tissue Antigens.* 2002 Oct;60(4):309-18.
- Turner, D. M., D. M. Williams, D. Sankaran, M. Lazarus, P. J. Sinnott y I. V. Hutchinson. (1997): An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 24:1-8.
- Van de Winkel JGJ, Capel PJA, 1993. Human IgG Fc Receptor heterogeneity: molecular aspects and clinical implications. *Immunol Today* 14:215-21.
- van Sorge NM, van der Pol W-L, van de Winkel JGJ, 2003. FcγR polymorphisms: Implications for function, disease susceptibility and immunotherapy. *Tissue Antigens* 61: 189-202.