



# ACTAS Dermo-Sifiliográficas

Full English text available at  
[www.elsevier.es/ad](http://www.elsevier.es/ad)



## CASO CLÍNICO

# Análisis del polimorfismo genético de los *loci* HLA-B y HLA-DR en pacientes con onicomycosis dermatofítica y familiares en primer grado

M.T. García-Romero<sup>a</sup>, J. Granados<sup>b</sup>, M.E. Vega-Memije<sup>a</sup> y R. Arenas<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Dermatología, Servicio de Micología, Hospital General Dr. Manuel Gea González, México D.F., México

<sup>b</sup> División de Inmunogenética, Departamento de Trasplantes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México D.F., México

Recibido el 17 de noviembre de 2010; aceptado el 10 de marzo de 2011

### PALABRAS CLAVE

Onicomycosis;  
Dermatofitos;  
HLA-DR;  
Genes del MHC II

### KEYWORDS

Onychomycosis;  
Dermatophytes;  
HLA-DR;  
Class II MHC genes

**Resumen** En la onicomycosis hay factores predisponentes conocidos y una alta prevalencia en familiares no explicada por transmisión intrafamiliar. Analizamos la frecuencia génica de alelos de los genes HLA-B y HLA-DR en 25 familias de pacientes mexicanos con onicomycosis para conocer el papel del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II en la susceptibilidad genética a esta enfermedad. Se estudiaron 78 individuos, 47 de ellos con onicomycosis y 31 sanos. Se determinaron las frecuencias génicas de los alelos de los *loci* HLA-B y HLA-DR y se compararon con las presentes en familiares de primer grado sin onicomycosis y con un grupo de individuos sanos. Estas fueron semejantes a las de familiares sanos; sin embargo, al comparar pacientes con controles históricos se encontró un aumento de la frecuencia del alelo HLA-DR8 ( $p=0,03$ ; OR=1,89; IC 95%: 0,98-36). Estos datos sugieren que dentro del MHC existen genes de susceptibilidad al desarrollo de onicomycosis; en particular con el alelo HLA-DR8.

© 2010 Elsevier España, S.L. y AEDV. Todos los derechos reservados.

### Analysis of Genetic Polymorphism of the HLA-B and HLA-DR Loci in Patients with Dermatophytic Onychomycosis and in Their First-Degree Relatives

**Abstract** Onychomycosis is known to have predisposing factors and a high prevalence within families that cannot be explained by within-family transmission. We determined the frequency of HLA-B and HLA-DR haplotypes in 25 families of Mexican patients with onychomycosis in order to define the role of the class II major histocompatibility complex (MHC) in genetic susceptibility to this infection. Seventy-eight subjects participated in the study, 47 with onychomycosis and 31 healthy individuals. The frequencies of the HLA-B and HLA-DR haplotypes were compared with those found in first-degree relatives without onychomycosis and in a historic control group of healthy individuals. The frequencies in the controls were similar to those of the healthy relatives of the patients. However, on comparison of the patients with historic controls, we detected a higher frequency of the HLA-DR8 haplotype ( $P=.03$ ; odds ratio, 1.89; 95% confidence interval, 0.98-36).

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [rarenas98@hotmail.com](mailto:rarenas98@hotmail.com) (R. Arenas).

These findings suggest that there are polymorphisms in genes of the MHC that increase susceptibility to onychomycosis, particularly haplotype HLA-DR8.  
© 2010 Elsevier España, S.L. and AEDV. All rights reserved.

## Introducción

Las onicomicosis son una de las alteraciones ungueales más frecuentes, siendo *T. rubrum* el agente causal más habitual (70 a 85%)<sup>1,2</sup>. Los principales factores predisponentes incluyen: humedad, maceración, oclusión, traumatismos, diabetes e inmunosupresión<sup>1,3</sup>. No se conocen las alteraciones inmunitarias en las dermatofitosis, aunque es probable que las células de Langerhans de la epidermis procesen los productos metabólicos del hongo y los presenten a neutrófilos y linfocitos. Sin embargo, se ha postulado que los pacientes con onicomicosis no evocan una respuesta celular adecuada para eliminar el dermatofito, además de tener disminuida la reactividad de hipersensibilidad retardada<sup>4</sup>. Este déficit inmunológico selectivo, y tal vez inducido, puede ser relativamente común, ya que hasta el 20% de la población general tiene una infección fúngica crónica<sup>3,5,6</sup>. Por otro lado, se han documentado casos de onicomicosis por *T. rubrum* en miembros de un mismo núcleo familiar, lo que sugiere un factor genético<sup>5-8</sup>; Zaias et al incluso mostraron por árbol genealógico un patrón de herencia autosómico dominante<sup>7</sup>. Esto no puede atribuirse a transmisión intrafamiliar, pues es muy baja la prevalencia de infección por este dermatofito en personas que se casan y viven durante años con personas afectadas<sup>6,7</sup>. De cualquier manera, la inmunidad celular disminuida es un factor de riesgo conocido para la onicomicosis, y la inmunidad celular intacta es crítica para erradicar los dermatofitos de la piel. Los genes del MHC son muy polimórficos y están involucrados en la regulación de la respuesta inmune, por lo que son útiles en la identificación de genes asociados con la susceptibilidad al desarrollo de enfermedades, particularmente infecciosas. Además de que los genes de HLA codifican moléculas

relacionadas con la respuesta inflamatoria (componentes del sistema del complemento y factor de necrosis tumoral)<sup>4,9,10</sup>, el polimorfismo tiene la peculiaridad de mostrar un fuerte desequilibrio de unión (*linkage disequilibrium*), por lo que cualquier alelo asociado con la enfermedad puede ser un marcador de la susceptibilidad a la enfermedad, y habrá que discernir cuál está en forma primaria y cuál en forma indirecta<sup>11-13</sup>; en la población mestiza mexicana el HLA-DR4 es el alelo más frecuente (23%)<sup>9,10,13</sup>. Estudios previos en población abierta han encontrado en mexicanos alelos de resistencia al desarrollo de onicomicosis<sup>14</sup>. El objetivo de este trabajo fue utilizar un diseño de familias que permitiera ampliar la genética de susceptibilidad al desarrollo de onicomicosis.

## Casos clínicos

Se realizó un estudio de segregación inmunogenética en familias con al menos un paciente con onicomicosis en el Servicio de Dermatología del Hospital General Dr. Manuel Gea González en el periodo de enero a julio 2010. El diseño y la metodología del estudio se ciñeron a las normas éticas estipuladas en la Declaración de Helsinki. Se incluyeron 47 pacientes mestizos mexicanos de nacimiento, con diagnóstico clínico de onicomicosis confirmado por examen directo y/o cultivo micológico positivos para un dermatofito. De estos, 25 eran familiares consanguíneos entre sí y 22 no consanguíneos. Además, se estudiaron 31 familiares de primer grado (consanguíneos y no consanguíneos) como sanos. Previa obtención de un consentimiento informado, a todos los individuos se les extrajo ADN genómico a partir de células mononucleares de sangre periférica para posteriormente amplificar las regiones específicas de los *loci* HLA-B y

**Tabla 1** Frecuencia génica de alelos del *locus* HLA-DR en pacientes con onicomicosis comparada con controles sanos

Locus HLA-DR	Pacientes N = 71		Controles N = 762		p	OR	IC 95%
	n	FG	n	FG			
DR4	20	0,281	196	0,257	NS	1,92	(1,04-3,54)
DR8	15	0,211	93	0,122	0,03		
DR14	10	0,140	67	0,087	NS		
DR7	6	0,084	69	0,090	NS		
DR13	6	0,084	66	0,086	NS		
DR1	4	0,056	62	0,081	NS		
DR11	3	0,042	46	0,090	NS		
DR3	2	0,028	54	0,070	NS		
DR15	2	0,028	45	0,059	NS		
DR10	1	0,014	12	0,015	NS		
DR12	1	0,014	6	0,007	NS		
DR16	1	0,014	38	0,049	NS		

FG: frecuencia génica; IC: intervalo de confianza; N: muestra; n: número de pacientes con el alelo HLA-DR correspondiente; OR: odds ratio.

HLA-DR mediante secuenciadores y PCR en el Departamento de Trasplantes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán; la determinación de alelos de cada *locus* se realizó a baja resolución mediante hibridación con sondas de oligonucleótidos específicas de secuencia. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa Stat-Calc dentro del paquete EPIINFO®.

Se compararon las frecuencias génicas de los haplotipos HLA-B y HLA-DR con un grupo control histórico compuesto por 381 individuos sanos que dieron lugar a 762 haplotipos; todos son mexicanos nacidos en México, al igual que sus últimas dos generaciones, y son parte de una cohorte compuesta por individuos sanos con propósito de donación de órganos, no consanguíneos y no relacionados. No tienen antecedentes de enfermedades autoinmunes o relacionadas con el HLA. Se desconoce la prevalencia de onicomycosis<sup>13</sup>.

En total se obtuvieron muestras de sangre periférica de 78 individuos, conformando un total de 25 familias. Las frecuencias de haplotipos HLA-B con HLA-DR se contabilizaron para los enfermos y para los sanos. Los haplotipos determinados en pacientes sanos fueron muy reducidos (28 haplotipos), haciendo imposible la comparación entre estos dos grupos. Debido a la alta variabilidad de haplotipos HLA-B con HLA-DR se decidió limitar la comparación con controles sanos a los alelos del *locus* HLA-DR que sí mostraban un patrón de agrupamiento más claro. La *tabla 1* muestra las frecuencias génicas en los pacientes con onicomycosis comparados con las presentes en individuos pertenecientes al mismo grupo étnico. Como se ve, en ambos grupos el alelo más frecuente es el HLA-DR4, lo que puede significar que ambos grupos tienen la misma etnicidad. El resto de las frecuencias génicas de los distintos alelos fue semejante tanto en los casos como en los controles, excepto para el alelo HLA-DR8, que ocurrió de manera aumentada en el grupo de pacientes comparado con el de controles ( $p = 0,03$ ; OR = 1,92; IC 95% = 1,04-3,54).

## Discusión

Nuestro trabajo muestra un alelo de susceptibilidad al desarrollo de onicomycosis en individuos mestizos mexicanos en el *locus* HLA-DR, particularmente el HLA-DR8. Curiosamente no se encontró disminución de ningún otro alelo del *locus* HLA-B ni del HLA-DR, por lo que todas las frecuencias génicas adicionales fueron semejantes tanto en el grupo experimental como en el control. Estos datos difieren de lo informado recientemente por Asz-Sigall et al, quienes encontraron una asociación significativamente baja del alelo HLA-DR6 en un grupo similar, lo cual sugiere que el HLA-DR6 confiere protección contra la infección<sup>14</sup>. La diferencia probablemente se deba al diseño, ya que este es un estudio de familias multicaso. Tampoco hemos encontrado una alta frecuencia de HLA-A26, HLA-AW33 y HLA-DR4, como Ahmed et al en su estudio de 29 pacientes con dermatofitosis crónica de los pies<sup>15</sup>. Nuestros hallazgos lógicamente no concuerdan con lo encontrado previamente en los dos estudios en pacientes judíos asquenazí, que sabemos que son un grupo homogéneo, con poca mezcla genética y que por lo tanto tienen un perfil de HLA bien conocido. Zaitz et al<sup>5</sup> concluyeron que el HLA-DR53 actúa como un factor protector en la susceptibilidad de desarrollar onicomycosis crónica por

*T. rubrum*, mientras que Sadahiro et al<sup>4</sup> encontraron que el alelo HLA-B14 se asoció con resistencia y posiblemente el alelo HLA-DQB1\*06 con susceptibilidad a la dermatofitosis crónica en este grupo inmunogenético. Sin embargo, en lo que concuerdan todos estos trabajos es en el papel tan importante de estos antígenos en la modulación de la respuesta inmune y el desarrollo de una infección fúngica crónica como es la onicomycosis. El mecanismo por el que el HLA-DR8 identifica la susceptibilidad a onicomycosis es diverso, probablemente multifactorial, donde el factor genético contribuye parcialmente; sin embargo, este trabajo es particularmente útil, pues incluyó familiares no consanguíneos de los casos índice de cada familia y en ellos el papel del HLA-DR8 se mantuvo. Ese factor genético es poligénico y los genes estudiados regulan la respuesta inmune, particularmente la adaptativa. Por ello, será importante añadir a esta en el futuro marcadores genéticos de moléculas involucradas en la inmunidad innata, como los receptores tipo *toll* presentes en las células fagocíticas.

## Conclusiones

En este trabajo se confirmó el papel del sistema HLA en la respuesta inmune de las células T hacia los antígenos fúngicos, y se identificó la presencia del alelo HLA-DR8 como un probable factor de susceptibilidad para tener onicomycosis dermatofítica en un grupo de familias de mestizos mexicanos. No se identificó un alelo HLA que confiera resistencia en este grupo de pacientes mexicanos, sin embargo el número de haplotipos en los pacientes sanos fue muy reducido.

Sería conveniente ampliar el número de familias para obtener un número suficiente de pacientes sanos con quienes realizar la comparación de frecuencias génicas en vez de recurrir a un grupo control histórico.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Agradecimientos

Agradecemos el apoyo de la Fundación Nacional para la Enseñanza y la investigación en Dermatología y la Fundación Mexicana de Dermatología, A.C., con el cual pudimos financiar los reactivos para extracción de ADN y determinación de alelos HLA para realizar este estudio.

## Bibliografía

1. Arenas R, Bonifaz A, Padilla MC. *Micosis superficiales. Tercera revisión del consenso nacional de prevención, diagnóstico y tratamiento*. México: UNAM; 2006. p. 15-29.
2. Arenas R. Las onicomycosis. Aspectos clínico-epidemiológicos, micológicos y terapéuticos. *Gac Med Méx.* 1990;126: 84-91.
3. Sigurgeirsson B, Steingrímsson O. Risk factors associated with onychomycosis. *JEADV.* 2004;18:48-51.
4. Sadahiro A, Feresin-Moraes JR, Hue-Moraes ME, Romero M, Alves de Lima Gouvea H, Gouvea CJ, et al. HLA in Brazilian ashkenazic jews with chronic dermatophytosis caused by *T. rubrum*. *Braz J Microbiol.* 2004;35:69-73.

5. Zaitz C, Campbell I, Moraes JR, Moraes ME, Gouvea C, Romero M, et al. HLA-associated susceptibility to chronic onychomycosis in Brazilian Ashkenazi Jews. *Int J Dermatol.* 1996;35:681-2.
6. Faergemann J, Correia O, Nowiki R, Ro BI. Genetic predisposition. Understanding underlying mechanisms of onychomycosis. *JEADV.* 2005;19 Suppl 1:17-9.
7. Zaias N, Tosti A, Rebell G, Morelli R, Bardazzi F, Bieleley H, et al. Autosomal dominant pattern of distal subungual onychomycosis caused by *Trichophyton rubrum*. *J Am Acad Dermatol.* 1996;34:302-4.
8. English MP. *Trichophyton rubrum* infection in families. *BMJ.* 1957:744-6.
9. Weckmann AL, Vargas-Alarcón G, López M, González N, De Leo C, Castelán N, et al. Frequencies of HLA-A and HLA-B alleles in a Mexico City mestizo sample. *Am J Hum Biol.* 1997;9:1-5.
10. De Leo C, Castelán N, López M, Gonzalez N, Weckmann AL, Melin-Aldana H, et al. HLA class I and Class II alleles and haplotypes in Mexican mestizos established from serological typing of 50 families. *Hum Biol.* 1997;69:809-18.
11. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med.* 2000;343:702-9.
12. Klein J, Sato A. The HLA system. Second of two parts. *N Engl J Med.* 2000;343:782-6.
13. Barquera R, Zúñiga J, Hernández-Díaz R, Acuña-Alonzo V, Montoya-Gama K, Moscoso J, et al. HLA class I and class II haplotypes in admixed families from several regions of Mexico. *Mol Immunol.* 2008;45:1171-8.
14. Asz-Sigall D, Vega-Memije ME, Lacy-Niebla RM, García-Corona C, Ramírez-Rentería C. HLA-DR6 association confers increased resistance to *T. rubrum* onychomycosis in Mexican Mestizos. *Int J Dermatol.* 2010;49:1406-9.
15. Ahmed AR, Schreiber P, Aiello J, Tiwari JL, Terasaki PI. A preliminary report on the role of some immunologic factors in persistence of chronic tinea pedis. *Clin Exp Dermatol.* 1985;10:45-50.