

Caracterización molecular de variantes codificantes no HLA de riesgo en población pediátrica con diabetes de tipo 1 y su asociación con el perfil clínico y autoinmunitario

Molecular characterization of risk non-HLA coding genetic variants in a pediatric population with type 1 diabetes: association with clinical and autoimmune profile

Purificación Ros Pérez¹, Clara Pérez Barrios², Miriam Díez Blanco², Itziar Martínez-Badás³, Nuria Santiesteban Rodríguez², María Esmeralda Colino Alcol⁴, Ana Royuela Vicente⁵, Francisco A. Bernabeu Andreu², María Encarnación Donoso Navarro²

¹ Endocrinología Pediátrica. Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid (España)

² Área de Bioquímica Especial. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid (España)

³ Endocrinología Pediátrica. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid (España)

⁴ Área de Endocrinología Infantil. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid (España)

⁵ Unidad de Bioestadística. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. Madrid (España)

Resumen

Introducción. La interacción entre factores genéticos y ambientales desempeña un papel crucial en el desarrollo del proceso autoinmunitario en pacientes con diabetes de tipo 1 (DM1), y se han identificado numerosos alelos de riesgo. Así, la mitad del riesgo genético de padecer DM1 se ha atribuido a variantes HLA de clase II y del gen de la insulina (*INS*). No obstante, poco se conoce sobre la contribución funcional de variantes localizadas en la región codificante no HLA y su posible influencia en la heterogeneidad y evolución clínica de dicha entidad, que pueden llegar a ser potenciales marcadores para terapias dirigidas.

Objetivos. 1) Caracterizar cinco alelos no HLA de riesgo localizados en regiones codificantes y dos

variantes intrónicas de los genes de insulina (*INS*) y receptor de la interleucina 2 (*IL2R*) en una cohorte de pacientes pediátricos con diagnóstico de DM1, y 2) analizar su posible asociación con parámetros clínicos y otras comorbilidades autoinmunitarias –tiroiditis y enfermedad celíaca (EC)–.

Pacientes y métodos. Se reclutó a 194 pacientes pediátricos (<18 años) con DM1. La extracción de ADN se realizó mediante QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen). Las variantes se analizaron utilizando seis sondas Taqman prediseñadas para los genes *PTPN22* (C__16021387_20), *CTLA4* (C__2415786_20), *CD226* (C__1464836_20), *SH2B3* (C__2981072_10), *INS* (C__1223317_10), *IL2R* (C__16095542_10) y una sonda de diseño customizado (ANWDEJA) de ThermoFisher en un equipo de qPCR *Step One Plus* (Applied Biosystems). Los datos clínicos se recogieron de la historia clínica electrónica. La frecuencia poblacional se obtuvo de la base de datos *Reference SNP Report* (National Institutes of Health) para raza caucásica y 50 controles sanos.

Resultados. Se analizó a 194 pacientes con DM1 (edad media en el inicio de 7,82 ± 3,93 años; 95 mu-

Correspondencia:

Purificación Ros Pérez

Endocrinología Pediátrica. Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Joaquín Rodrigo, n.º 1, 28222, Madrid, España

E-mail: prosmon@hotmail.com

E-mail: puri.rospe@salud.madrid.org

jes); 19 de ellos asociaron EC, y 115, EC sin DM1 (edad media: $7,52 \pm 3,6$ años; 63 mujeres). Describimos las frecuencias alélicas encontradas en los distintos grupos analizados, así como las diferencias estadísticamente significativas en la expresión de algunas de las variantes; fundamentalmente en el gen de la insulina ($p < 0,001$) y de *CD226* ($p = 0,017$). En los pacientes que asociaban DM1 y EC observamos sobrerepresentación de las variantes de los genes *PTPN22*, *CTLA4* y *CD226* ($p < 0,05$).

Conclusiones. 1. La sobreexpresión de determinadas variantes de riesgo no HLA analizadas (*INS*, *PTPN22*, *CD226*) en pacientes pediátricos con DM1, apoya el carácter poligénico de la enfermedad, señalando posibles dianas terapéuticas que modulen el proceso autoinmunitario. 2. La asociación detectada entre algunas variantes de riesgo no HLA y determinados perfiles clínicos y autoinmunitarios, así como la edad en el inicio, podrían ayudar a identificar a pacientes de riesgo y a guiar su seguimiento clínico. 3. La sobreexpresión diferencial de algunas variantes (*CD226*) en pacientes con más de una patología autoinmunitaria (DM1 y EC) podría señalar un perfil de susceptibilidad distintivo en un subgrupo de pacientes.

Palabras clave: *diabetes de tipo 1, variantes genéticas de riesgo no HLA, dianas moleculares, terapia dirigida.*

Abstract

Introduction. In patients with type 1 diabetes (T1D), the interaction between genetic and environmental factors plays a critical role in the development of the autoimmune process, with several risk alleles identified. Half of the genetic risk of suffering from T1D has been attributed to major histocompatibility complex (MHC) class II and insulin gene (*INS*) variants. However, little is known about the functional contribution of variants located in the non-HLA coding region and their possible influence on the heterogeneity and clinical evolution of T1D, which could also become potential markers for targeted therapies.

Objectives. 1) Characterize 5 non-HLA risk alleles located in coding regions and 2 intronic variants of the Insulin gene (*INS*) and Interleukin 2 receptor (*IL2R*) genes, in a cohort of pediatric patients diagnosed with T1D, and 2) Analyze its potential association with clinical parameters, and other autoimmune comorbidities (thyroiditis and celiac disease –CD–).

Patients and methods. A total of 194 pediatric patients (<18 years) with T1D were recruited. DNA extraction was performed using QIAamp® DNA Mini

Kit (Qiagen). Variants were analyzed (ThermoFisher on a Step One Plus qPCR) using 6 predesigned Taqman probes for the genes: *PTPN22* (C__16021387_20), *CTLA4* (C__2415786_20), *CD226* (C__1464836_20), *SH2B3* (C__2981072_10), *INS* (C__1223317_10), *IL2R* (C__160955_42_10), and 1 custom designed probe (ANWDEJA). Clinical data were collected from the electronic medical record. The allelic frequency in the general population was obtained from the *Reference SNP Report (NIH)* database for Caucasian individuals, and from 50 healthy controls.

Results. 194 patients with T1D (mean age at onset of 7.82 ± 3.93 years; $n = 95$ women) were analyzed; 19 of them also had CD. We also studied 115 patients with CD without T1D (mean age of 7.52 ± 3.60 years; 63 women) and 50 healthy controls. We describe the allelic frequencies found in those three groups, as well as the statistically significant differences found in the expression of some of the variants, mainly in the insulin gene ($p < 0.001$) and *CD226* ($p = 0.017$). In patients with associated T1D and CD, we observed an over-representation of the *PTPN22*, *CTLA4* and *CD226* gene variants ($p < 0,05$).

Conclusions. 1. The overexpression of certain non-HLA risk variants analyzed (*INS*, *PTPN22*, *CD226*) in pediatric patients with T1D suggests the polygenic nature of the disease, and highlights possible therapeutic targets that could modulate the autoimmune process. 2. The association detected between some non-HLA risk variants and certain clinical and autoimmune profiles, as well as the age at onset of T1D, could help identify patients at risk and guide their clinical follow-up. 3. The differential overexpression of some variants (*CD226*) in patients with T1D and CD could indicate a distinctive susceptibility profile.

Key words: *type 1 diabetes, non-HLA genetic risk variants, molecular targets, targeted therapy.*

Introducción

La diabetes mellitus de tipo 1 (DM1) es la patología metabólica crónica más frecuente en la edad pediátrica, con incidencia creciente en los últimos años, especialmente en niños pequeños^(1,2). Se caracteriza por la presencia de hiperglucemia secundaria a un déficit en la producción de insulina por destrucción de las células β del páncreas, por lo general, debido a mecanismo autoinmunitario (DM1A), apareciendo anticuerpos frente a diversas dianas de la célula β pancreáticas –antiinsulina (IAA), antidescarboxilasa del ácido glutámico 65 (GADA), antitirosina fosfatasa IA2 (IA2) y antiisofor-ma 8 del transportador de cinc (ZnT8)–; en casos minoritarios puede ser idiopática (DM1B)^(1,2).

La interacción entre factores genéticos y ambientales desempeña un papel crucial en el desarrollo del proceso autoinmunitario en los pacientes con DM1, y se han identificado numerosos alelos de riesgo. Así, la mitad del riesgo genético de padecer DM1 se ha atribuido a variantes HLA de clase II y del gen de la insulina (*INS*), que parecen estar relacionados con una desregulación de la autoinmunidad mediada por linfocitos T⁽³⁾. No obstante, poco se conoce sobre la contribución funcional de variantes localizadas en la región codificante no HLA y su posible influencia en la heterogeneidad y evolución clínica de dicha entidad, que pueden llegar a ser potenciales marcadores para terapias dirigidas.

En los últimos años, distintos estudios de asociación del genoma completo han permitido la identificación de múltiples variantes genéticas de riesgo no HLA, que parecen estar relacionadas con la heterogeneidad clínica de la enfermedad^(4,5). A pesar de que muchas de estas variantes de riesgo se localizan en regiones intrónicas y, por lo tanto, no son codificantes⁽⁴⁾, una reciente revisión de Shapiro et al⁽⁶⁾ ha analizado 13 variantes o polimorfismos de nucleótido único codificantes identificadas en 10 genes diferentes (*PTPN22*, *IFIH1*, *SH2B3*, *CD226*, *TYK2*, *FUT2*, *SIRPG*, *CTLA4*, *CTSH* y *UBASH3A*). Este artículo describe no sólo la relación de estas variantes con el riesgo de desarrollar DM1, sino que incluye también sus potenciales implicaciones clínicas y terapéuticas dentro de la medicina de precisión. Además, muchas de estas variantes se han relacionado con otras patologías autoinmunitarias, asociadas o no a la DM1.

Por otra parte, el desarrollo reciente de nuevas terapias capaces de frenar, al menos temporalmente, la progresión a fases clínicas de la enfermedad ha puesto de manifiesto la necesidad de realizar un diagnóstico precoz y preciso mediante sistemas de puntuación de riesgo, que incluyan tanto las variantes HLA como polimorfismos no HLA. Guiados por esa necesidad de identificar tanto marcadores de riesgo como posibles dianas terapéuticas para la DM1, apoyados por la beca José Igea de la Fundación Española de Endocrinología Pediátrica, hemos llevado a cabo la caracterización molecular de algunas de las variantes genéticas no HLA descritas en una cohorte pediátrica con DM1.

Objetivos

Principal

- Caracterizar cinco alelos no HLA de riesgo localizados en regiones codificantes y dos variantes intrónicas de los genes de insulina (*INS*) y receptor de la interleucina 2 (*IL2R*) en una co-

horte de pacientes pediátricos diagnosticados de DM1.

Secundarios

- Estimar la prevalencia de las variantes genéticas analizadas en la población de estudio, comparándola con una población general de referencia.
- Analizar su posible asociación con parámetros clínicos (edad de inicio) y otras comorbilidades autoinmunitarias –tiroiditis y enfermedad celíaca (EC)–.

Pacientes y métodos

Se trata de un estudio observacional, retrospectivo, analítico y transversal, basado en el análisis de variantes genéticas no HLA de riesgo para DM1 en una cohorte de pacientes pediátricos (≤ 18 años) diagnosticados de esta patología ($n = 194$; 95 mujeres y 99 varones). Los participantes se seleccionaron en la consulta de endocrinología y diabetes pediátrica del Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Madrid, según los criterios de inclusión y exclusión posteriormente descritos, y tuvieron que firmar el correspondiente consentimiento informado. Dada la asociación clínica entre DM1 y EC, analizamos también la prevalencia de dichas variantes en una serie de pacientes con EC sin DM1 ($n = 115$; 63 mujeres y 52 varones), controlados en la consulta de gastroenterología pediátrica del mismo centro, así como en una población pediátrica control ($n = 50$). El estudio fue aprobado por el comité de ética y ensayos clínicos de nuestro centro. Se consideró criterio de exclusión no disponer de consentimiento informado, la imposibilidad de venopunción o la muestra insuficiente para el estudio, así como el diagnóstico de cromosopatías (por ejemplo, síndrome de Down o síndrome de Turner) o poliendocrinopatías familiares.

Los autoanticuerpos se analizaron mediante la técnica de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA): antiinsulina –IAA– (ESKULISA insulina; AESKU Diagnostics), con una sensibilidad del 70% y una especificidad del 98,5%; antitirosina fosfatasa 2 –anti-IA2– (ELISA RSR IA2 V2), con una sensibilidad del 96% y una especificidad del 100%; y anti-GAD65 (ELISA RSR GADab), con una sensibilidad del 78% (IASP 2013) y del 90% (DSP 2010), y una especificidad del 99% (IASP2012) y del 94% (DSP 2010).

El ADN leucocítico se extrajo, una vez obtenido el *buffy coat* mediante centrifugación, utilizando un sistema Maxwell® (Promega), para su posterior

cuantificación en un espectrofotómetro *NanoDrop™* (Thermo Scientific). Por último, las muestras de ADN se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento. Se analizaron cinco alelos localizados en regiones codificantes y dos variantes intrónicas de los genes de insulina (*INS*) y receptor de la interleucina 2 (*IL2R*). La identificación de las variantes analizadas se llevó a cabo mediante amplificación de la región de interés, utilizando *primers* o cebadores específicamente diseñados para ello, y posterior secuenciación *Sanger*. Las variantes se analizaron utilizando seis sondas Taqman prediseñadas para los genes *PTPN22* (C_16021387_20), *CTLA4* (C_2415786_20), *CD226* (C_1464836_20), *SH2B3* (C_2981072_10), *INS* (C_1223317_10) e *IL2R* (C_16095542_10), y 1 sonda de diseño customizado (ANWDEJA) de Thermofisher en un equipo de qPCR *Step One Plus* (Applied Biosystems).

La frecuencia alélica se calculó según la fórmula descrita $[(n.^{\circ}\text{ de homocigotos} \times 2) + \text{heterocigotos}] / n$ total de población de estudio, y se comparó tanto con una población control de nuestro centro ($n = 50$ con edad ≤ 18 años) como con la frecuencia alélica poblacional de la base de datos *Reference SNP Report* (National Institutes of Health) para raza caucásica, donde estaba incluida el 86,7% de nuestra población de estudio. Los datos de las variantes identificadas se relacionaron también con diversas variables clínicas: edad de inicio de la enfermedad, presencia/ausencia, tipo y número de autoanticuerpos, así como presencia de otras patologías autoinmunitarias concomitantes, como EC y tiroiditis.

Para el estudio descriptivo y estadístico, las variables cuantitativas se expresaron como media $\pm$ desviación estándar o mediana (rango intercuartílico) según proceda. El análisis estadístico se realizó mediante el Stata v15.1 Software (StataCorp2017). Las pruebas con un valor de $p < 0,05$ se consideraron estadísticamente significativas.

Resultados

Del grupo de pacientes con DM1 ($n = 194$; 95 mujeres y 99 varones), la edad media en el inicio fue de $7,82 \pm 3,93$ años, y 19 de ellos (12 mujeres y 7 varones) asociaban EC, sin diferencias entre ambos grupos en cuanto a edad (edad media de individuos con DM1 y EC: $7,85 \pm 3,97$ años). La edad media de los pacientes con EC sin DM1 ($n = 115$; 63 mujeres y 52 varones) fue de $7,52 \pm 3,6$ años.

De los 188 pacientes de los que disponíamos de datos de autoinmunidad pancreática (anti-GAD, anti-IA2 e anti-IAA), un 89% ($n = 168$) tuvo algún anticuerpo positivo y 21 resultaron negativos para los tres autoanticuerpos analizados. De los 178 pa-

cientes con datos de autoinmunidad tiroidea en el momento del estudio, 30 tuvieron autoinmunidad tiroidea positiva (anti-TPO y/o antitiroglobulina), y siete desarrollaron hipotiroidismo.

Las frecuencias alélicas encontradas en cada grupo quedan representadas en la [figura 1](#). Encontramos diferencias estadísticamente significativas en la expresión de las variantes del gen de la insulina ($p < 0,001$) y de *CD226* ($p = 0,017$), que mostraba sobreexpresión en los grupos con DM1 con o sin EC asociada cuando se comparaba con las frecuencias de los grupos de control. En los pacientes que asociaban DM1 y EC observamos una sobrerepresentación de las variantes de los genes *PTPN22*, *CTLA4* y *CD226* ($p < 0,05$). Por otra parte, encontramos que la variante del gen *SH2B3*, descrita como posible protectora del desarrollo de EC, estaba menos expresada en pacientes con EC con o sin DM1 ([Figura 1](#)). No encontramos ninguna diferencia estadísticamente significativa en las frecuencias alélicas de las variantes de *FUT2* e *IL2R* en los distintos grupos analizados ([Figura 1](#)).

La asociación de las distintas variantes genéticas analizadas con el perfil clínico queda resumida en la [tabla 1](#). Encontramos asociación de las variantes de *CTLA4* y *SH2B3* con una mayor edad en el inicio, así como de las variantes de *PTPN22* y *CTLA4* con la presencia de autoanticuerpos IA2 y GAD, respectivamente ([Tabla 1](#)). La variante de *FUT2* la encontramos asociada a un mayor número de autoanticuerpos pancreáticos en el inicio.

Discusión

De forma global, y en línea con resultados de otros estudios⁽⁵⁻⁹⁾ que describen determinadas variantes

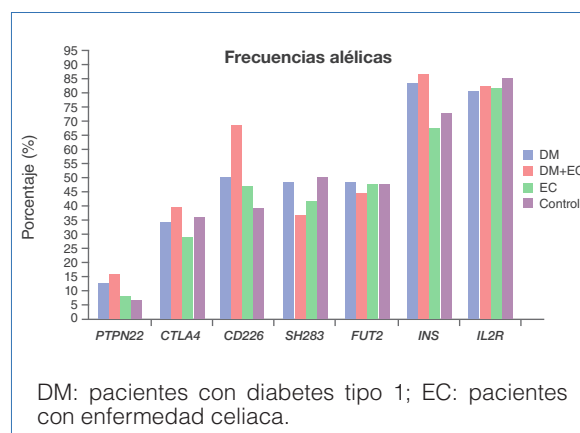


Figura 1. Frecuencias alélicas de las distintas variantes genéticas (*PTPN22*, *CTLA4*, *CD226*, *SH2B3*, *FUT2*, *INS* y *IL2R*) analizadas.

Tabla 1. Asociación entre las distintas variantes genéticas y el perfil clínico y autoinmune (edad, tipo y número de auto-anticuerpos pancreáticos -AutoAc- al debut, asociación de enfermedad celiaca- EC- y autoinmunidad tiroidea- anti-TG y/o anti-TPO).

GEN	Identificación rs	Edad de inicio	Autoinmunidad positiva (GAD/IA2/IAA) (n = 188)	N.º de autoanticuerpos (GAD/1A2/IAA)	E. Celiaca -EC-(n = 115)	Anti-TG y/o anti-TPO (n = 30)
<i>PTPN22</i>	rs2476601 (G/A)	NS	Anti-IA2 (p = 0,026)	NS	NS	NS
<i>CTLA4</i>	rs231775 (A/G)	p = 0,010	Anti-GAD (p = 0,005)	NS	p = 0,05	NS
<i>CD226</i>	rs763361 (C/T)	NS	NS	NS	NS	NS
<i>SH2B3</i>	rs3184504 (C/T)	p = 0,047	NS	NS	NS	p = 0,07
<i>FUT2</i>	rs601338 (G/A)	NS	NS	p = 0,02	NS	NS
<i>INS</i>	rs689 (A/T)	NS	NS	NS	NS	NS

EC: enfermedad de Crohn; GAD: descarboxilasa del ácido glutámico; IA2: tirosina fosfatasa IA2; IAA: antiinsulina; NS: no significativo; Tg: tiroglobulina; TPO: peroxidasa tiroidea.

no HLA como de riesgo para el desarrollo de DM1, hemos encontrado una sobreexpresión de algunas de ellas (*INS*, *PTPN22* y *CD226*) en pacientes pediátricos con DM1. Asimismo, hemos observado una expresión diferencial de algunas de estas variantes en los distintos grupos de pacientes (DM1 con/sin EC; EC sin DM y población control), tal y como queda reflejado en la [figura 1](#). Todo ello apoya el carácter poligénico de la enfermedad, además de señalar posibles dianas terapéuticas que modulen el proceso autoinmunitario. Además, la sobrerrepresentación de algunas variantes (*CD226*) en pacientes con más de una patología autoinmunitaria (DM1 y EC) podría señalar un perfil de susceptibilidad distintivo en un subgrupo de pacientes.

Así, por ejemplo, la variante rs2476601 en el gen *PTPN22* que presenta una adenina (A) en lugar del alelo mayoritario guanina (G), y que conlleva el cambio p.Arg620Tryp, está considerada el mayor factor de riesgo para el desarrollo de DM1 después del HLA-DR/DQ y del gen *INS*, con una *odds ratio* de 1,81⁽⁶⁾. En nuestra cohorte, hemos encontrado dicha variante sobrerrepresentada en los pacientes con DM1 frente a la población control, al igual que la variante del gen de la insulina (*INS*), bien descrita en la bibliografía^(5,6). Aunque la presencia de esta variante en el gen *PTPN22* parece estar relacionada con la aparición de anticuerpos antiinsulina en estadios iniciales⁽⁷⁾, así como con otras patologías autoinmunitarias (artritis reumatoide, enfermedad de Crohn o enfermedad celiaca)^(8,9), curiosamente en nuestra cohorte hemos encontrado una asociación de dicha variante con la presencia de anticuerpos IA2, descritos en estadios en los que ya hay destrucción de la célula β pancreática. Ello puede deberse a un distinto estadio evolutivo de nuestra cohorte frente a las descritas, o bien a diferencias poblacionales.

La asociación detectada entre la variante *CTLA4* y la presencia de anti-GAD y mayor edad en el inicio coincide con lo descrito por otros autores^(10,11). Según Balic et al, la variante rs231775 en el gen *CTLA4*, en la que el cambio A por G genera una sustitución p. Thr17Ala (*odds ratio*: 1,2), parece estar relacionada con la presencia de anticuerpos anti-GAD y con la aparición tardía de la enfermedad⁽¹⁰⁾. La implicación de este receptor CTLA-4 en la regulación de las células T ha favorecido el interés en el uso del fármaco abatacept, una proteína de fusión CTLA4-IgG1, para retrasar la pérdida de función de las células β en pacientes recién diagnosticados de DM1⁽¹²⁾. En este sentido, existen en la actualidad varios ensayos clínicos que pretenden evaluar la utilidad de esta molécula sola o en combinación con rituximab (anti-CD20) para prevenir o retrasar la progresión de la DM1 en estadios iniciales⁽¹³⁾.

La interleucina 2 y su receptor (ILR2) desempeñan una función crítica en la homeostasis de las células T reguladoras, y contribuyen a la diferenciación de células T colaboradoras y citotóxicas, así como de linfocitos T de memoria y tolerancia inmunológica. Aunque la frecuencia alélica de la variante de *ILR2* analizada parece ser superior en la población general que en el resto de los grupos estudiados (DM1 con/sin EC y EC sin DM1), lo cual podría sugerir un efecto 'protector', no se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los grupos. Por otra parte, algunos autores han descrito una asociación significativa entre determinadas variantes del gen *ILR2* (rs12251307) y el riesgo de padecer DM1⁽¹⁴⁾. No obstante, en nuestra serie no encontramos asociación del polimorfismo analizado con ninguna de las variables estudiadas.

Es importante destacar que la identificación de los genes que presentan variantes de riesgo puede

ayudarnos a orientar la terapia más adecuada al perfil de cada paciente, incluyendo también puntuaciones de riesgo⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Tal y como sugieren Shapiro et al⁽⁶⁾, los pacientes portadores de variantes de riesgo en los genes *IFIH1* y *TYK2* podrían beneficiarse con terapias dirigidas frente a la respuesta mediada por interferón de tipo 1, mientras que los que sean portadores de variantes de riesgo en los genes *PTPN22*, *CD226*, *CTLA4*, *UBASH3A* y *SIRPG* podrían hacerlo con fármacos moduladores de la coestimulación de células T. De forma similar, los pacientes con variantes de riesgo en *PTPN22* y *CTLA4*, por su propensión a desarrollar anticuerpos IAA y GAD, respectivamente, podrían beneficiarse de terapias de tolerancia específica del antígeno⁽⁷⁾.

Conclusiones

La sobreexpresión de determinadas variantes de riesgo no HLA analizadas (*INS*, *PTPN22* e *CD226*), en pacientes pediátricos con DM1, apoya el carácter poligénico de la enfermedad y señala posibles dianas terapéuticas que modulen el proceso autoinmunitario.

La asociación detectada entre algunas variantes de riesgo no HLA y determinados perfiles clínicos y autoinmunitarios, así como la edad en el inicio, podrían ayudar a identificar a pacientes de riesgo y guiar su seguimiento clínico.

La sobreexpresión diferencial de algunas variantes (*CD226*) en pacientes con más de una patología autoinmunitaria (DM1 y EC) podría señalar un perfil de susceptibilidad distintivo en un subgrupo de pacientes.

Futuros estudios

En cuanto a la ampliación del estudio, continuamos incrementando el tamaño muestral de pacientes y tenemos en marcha el análisis de otras variantes no HLA de genes implicados en el desarrollo de la DM1 y de la patología autoinmunitaria en general, así como el profundizar en el perfil alélico y autoinmunitario de los hermanos de pacientes con DM1 con/sin EC asociada.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses potenciales.

©Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica (<https://www.seep.es>). Publicado por Evidence Health España, S.L.U. (<https://www.evidenze.com>).

Artículo Open Access bajo licencia CCBY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Bibliografía

1. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. Lancet 2018; 391: 2449-62.
2. Spain diabetes report 2010-2045. URL: <https://diabetesatlas.org/data/en/country/187/es.html>. Fecha última consulta: 10th edición junio 2021.
3. Nyaga DM, Vickers MH, Jefferies C, Perry JK, O'Sullivan JM. The genetic architecture of type 1 diabetes mellitus. Mol Cell Endocrinol 2018; 477: 70-80.
4. Grant SFA, Wells AD, Rich SS. Next steps in the identification of gene targets for type 1 diabetes. Diabetologia 2020; 63: 2260-9.
5. Shapiro MR, Thirawatananond P, Peters L, Sharp RC, Ogundare S, Posgai AL, et al. Decoding genetic risk variants in type 1 diabetes. Immunol Cell Biol 2021; 99: 496-508.
6. Robertson CC, Inshaw JRJ, Chen WM, Cutler AJ, Crouch DJM, Bridges SL, et al. Fine-mapping, trans-ancestral and genomic analyses identify causal variants, cells, genes and drug targets for type 1 diabetes. Nat Genet 2021; 53: 962-71.
7. Krischer JP, Liu X, Vehik K, Akolkar B, Hagopian WA, Rewers MJ, et al. Predicting islet cell autoimmunity and type 1 diabetes: an 8-year teddy study progress report. Diabetes Care 2019; 42: 1051-60.
8. Chung SA, Criswell LA. PTPN22: its role in SLE and autoimmunity. Autoimmunity 2007; 40: 582-90.
9. Houcken J, Degenhart C, Bender K, König J, Frommer L, Kahaly GJ. PTPN22 and CTLA-4 polymorphisms are associated with polyglandular autoimmunity. J Clin Endocrinol Metab 2018; 103: 1977-84.
10. Balic I, Angel B, Codner E, Carrasco E, Pérez-Bravo F. Association of CTLA-4 polymorphisms and clinical-immunologic characteristics at onset of type 1 diabetes mellitus in children. Hum Immunol 2009; 70: 116-20.
11. Krischer JP, Lynch KF, Schatz DA, Ilonen J, Lernmark Å, Hagopian WA, et al. The 6 year incidence of diabetes-associated autoantibodies in

genetically at-risk children: the TEDDY study. *Diabetologia* 2015; 58: 980-7.

12. Orban T, Bundy B, Becker DJ, DiMeglio LA, Gitelman SE, Goland R, et al. Co- stimulation modulation with abatacept in patients with recent-onset type 1 diabetes: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2011; 378: 412-9.
13. CTLA4-Ig (Abatacept) for Prevention of Abnormal Glucose Tolerance and Diabetes in Relatives At -Risk for Type 1 - No Study Results Posted ClinicalTrials.gov. URL: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT01773707>. Fecha última consulta: 6 de junio 2024
14. Sarma C, Ali BR, Osman W, Afandi B, Aburawi EH, Beshyah AS, et al. Association of variants in PTPN22, CTLA4, IL2_RA, and INS genes with type 1 diabetes in Emiratis. *Ann Hum Genet* 2021; 85: 48- 57.
15. Battaglia M, Ahmed S, Anderson MS, Atkinson MA, Becker D, Bingley PJ, et al. Introducing the endotype concept to address the challenge of disease heterogeneity in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2020; 43: 5-12.
16. Nguyen C, Varney MD, Harrison LC, Morahan G. Definition of high-risk type 1 diabetes HLA-DR and HLA-DQ types using only three single nucleotide polymorphisms. *Diabetes* 2013; 62: 2135-40.
17. Luckett AM, Weedon MN, Hawkes G, Leslie RD, Oram RA, Grant SFA. Utility of genetic risk scores in type 1 diabetes. *Diabetologia* 2023; 66: 1589-600.