

**ASOCIACIÓN DEL ANTÍGENO DE HISTOCOMPATIBILIDAD HLA-B15 Y  
ESPONDILOARTRITIS, SU INFLUENCIA EN LA PRESENTACIÓN CLÍNICA Y  
PRONÓSTICO EN LA COHORTE DE PACIENTES DEL HOSPITAL MILITAR  
CENTRAL**

**ESTUDIANTE DE DOCTORADO:**

**ANA MARIA SANTOS**

**DIRECTOR:**

**CARLOS JARAMILLO**

**CODIRECTOR:**

**JOHN D. LONDOÑO**

## CAPITULO 1. INTRODUCCION

Las Espondiloartritis (SpA), llamadas artritis seronegativas, son un grupo frecuente de enfermedades reumáticas que afectan a personas jóvenes, especialmente hombres menores de 45 años, generando una importante discapacidad y alteración de la calidad de vida producto de la afección de las articulaciones de la columna vertebral, especialmente el segmento lumbar y sacro, al igual que en las articulaciones de los miembros inferiores.<sup>[1]</sup>

Tradicionalmente en este grupo de enfermedades se ha identificado e investigado la forma más severa de presentación clínica llamada Espondilitis Anquilosante (AS), caracterizada por la formación de puentes óseos entre la vertebras que generan la imagen radiológica de “columna en caña de bambú” y la presencia del alelo HLA-B27 en más del 90% de los enfermos. Esta forma es la más frecuente presentación clínica en población blanca de origen anglosajón. En nuestro medio la AS es menor al 40% de todas las SpA, como ha sido ya reportado en la cohorte del Hospital Militar <sup>[1, 2]</sup>. Más del 60% de los enfermos Colombianos corresponden a formas no definidas de enfermedad (uSpA), llamadas así por el hecho de presentar todo el conjunto de signos y de síntomas, pero que no pueden ser clasificadas como AS por la ausencia de compromiso radiológico “anquilótico” a nivel de la columna vertebral.<sup>[3]</sup> La asociación errónea de las SpA con estados severos de enfermedad representados por “anquilosis” ha limitado la posibilidad de establecer un diagnóstico adecuado en los pacientes con formas en estadios tempranos o con enfermedad leve plenamente establecida. Muchos pacientes son mal diagnosticados como lumbago común, hernias de disco, espondilo artrosis de columna o fibromialgia. Un detenido análisis clínico podría superar esta barrera diagnóstica en la mayoría de los casos <sup>[4]</sup>

En las uSpA, la frecuencia del HLA-B27 está por debajo del 40%, lo que podría ser responsable de la mejor evolución y el buen pronóstico a largo plazo<sup>[3]</sup>. En estudios previos

publicados<sup>[1]</sup> por el grupo de Espondiloartritis del Hospital Militar Central, otras moléculas de HLA-B parecen tener una fuerte asociación en este subgrupo, siendo el más representativo el HLA-B15. Este alelo cobra importancia en nuestra población dado el mestizaje sufrido durante la conquista y colonización que mezcló el amerindio con el blanco europeo y el negro africano.

Existe información que permite suponer que al menos en poblaciones mestizas latinoamericanas las formas uSpA, conformarían una categoría definida de enfermedad, con características propias en lo relacionado con una edad de inicio más tardía y el mejor pronóstico en el tiempo. La ausencia del B27 y la presencia del B15, podría explicar este comportamiento<sup>[1]</sup>. De la misma forma el establecer una posible relación entre la enfermedad y subtipo específico de B15 daría un sentido biológico a la relación y abriría un campo de investigación en procura de mejor información relacionada con la etiología de la enfermedad. Por tal motivo se estudió el polimorfismo del HLA-B15 en las Espondiloartritis de los pacientes atendidos en el Servicio de Reumatología del Hospital Militar Central.

## **1 ESPONDILOARTITIS**

Las Espondiloartritis (SpA) son un grupo heterogéneo de enfermedades articulares inflamatorias crónicas, que comparten manifestaciones clínicas, radiológicas, relación con el HLA-B27 y una marcada tendencia a la asociación familiar.<sup>[5]</sup> El nombre de SpA se deriva en 1695 después de que el médico irlandés Bernard Connor describió las características de un paciente con Espondilitis Anquilosante, de allí su nombre en griego Spondylos que significa vertebra, itis = inflamación, ankylos = encorvado, torcido, fusionado<sup>[6]</sup>.

Clínicamente las SpA se caracterizan por el compromiso del esqueleto axial, el compromiso articular periférico, las entesopatías y las manifestaciones extra articulares dentro de las que sobresalen la afección de la piel y las mucosas.

De este grupo de enfermedades hacen parte:

- Espondilitis Anquilosante (AS): en la cual se destaca el compromiso radiológico de las articulaciones sacroilíacas
- Artritis Reactiva (ReA): donde hay documentado un antecedente de infección previo a la aparición de los síntomas reumáticos
- Artropatía asociada al compromiso de la piel por Psoriasis (PsA)
- Artropatía de la enfermedad inflamatoria intestinal (Enfermedad de Crohn y Colitis Ulcerativa)
- Las formas no definidas o “indiferenciadas” (uSpA). Estas últimas corresponden a pacientes con signos y síntomas comunes a las SpA, que no pueden ser clasificados en las otras categorías. [7]
- SpA juvenil
- Uveítis Anterior Aguda

## ***1.1 Criterios Diagnósticos***

El diagnóstico esta dado por criterios clínicos y radiológicos, la mayoría de veces la enfermedad ya está establecida impidiendo un diagnóstico temprano. En 1984 se establecieron los Criterios de New York los cuales están basados en hallazgos clínicos que incluyen el dolor lumbar, la rigidez, disminución la expansibilidad torácica y los hallazgos radiológicos basados en el grado de sacroiliitis.[5, 8] En 1990 los investigadores Amor y colaboradores realizaron los Criterios de Bernard Amor en el cual incluyeron datos genéticos (presencia de HLA-B27) y la respuesta al tratamiento, los anteriores criterios por basarse en los hallazgos clínicos y los cambios radiográficos no permiten la realización del diagnostico temprano.[8, 9] Posteriormente en 1991 el Grupo Europeo para el Estudio de

Espondiloartropatías (ESSG) desarrolló los criterios que actualmente se utilizan en el cual los criterios de entrada, son la presencia de dolor lumbar inflamatorio o sinovitis ya sea de tipo asimétrica o predominantemente en miembros inferiores<sup>[8]</sup>. Actualmente se está implementando para el diagnóstico y la clasificación los criterios axiales (axSpA) y periféricos (pSpA) dados por el grupo de expertos en Espondiloartritis (ASAS) los cuales se concentran en la forma de presentación de la enfermedad ya sea de tipo periférico o que tenga un compromiso axial <sup>[10, 11]</sup>

## ***1.2 Prevalencia***

A nivel mundial, se describe entre un 0,1-2.5% la prevalencia de todas las SpA, se ha observado que en diferentes regiones su comportamiento puede ser mayor o menor, como es el caso del Japón en el cual se evidencia la menor prevalencia, a diferencia del polo ártico en donde es mayor. Esto sugiere que existen factores que modifican la frecuencia de la enfermedad, uno de ellos es el ambiental evidenciado en la región geográfica donde se presenta la mayor frecuencia del alelo HLA-B27 y la mayor prevalencia de la enfermedad. <sup>[12-14]</sup>

Es así que la presentación de estas enfermedades varía en los diferentes países, recientemente se ha reportado la prevalencia en diferentes regiones, en España se ha reportado un 1,8% con un rango de 1,2 a 2,3%<sup>[15]</sup>, en Norte América la prevalencia de SpA es de 1%, para la AS 0,2 – 0,5%, la PsA 0,1%, para ReA 0,21%, y se describe que el 40% del total de SpA corresponden a las formas uSpA.<sup>[16]</sup> En México para el año 2008 se ha reportado la prevalencia de SpA entre el 0,4 – 0.9%, con una media del 0,6%, la de mayor presencia es la AS con 0,09% (0,02 – 0,2%).<sup>[17]</sup> En Colombia no hay reporte de la prevalencia, únicamente los datos que se han reportado en la cohorte del Hospital Militar en el cual la mayor frecuencia son las AS con un 43.6%, seguida de las uSpA 29.6%, ReA 5.6%<sup>[1, 2]</sup>, una cohorte en la ciudad de Medellín correspondiente al Hospital Pablo Tobón

Uribe en el cual ingresaron 71 pacientes con la siguiente distribución: 31 (43%) AS, 20 (29%) uSpA, 13(18%) PsA, 4 (5%) ReA y 3 (4%) Espondiloartritis asociada a enfermedad inflamatoria intestinal [18]

Otro de los factores que afecta la prevalencia es la parte genética, siendo el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) Clase I especialmente el alelo B27 el de mayor asociación con la presencia de la enfermedad. A nivel mundial se estima que la presencia del alelo HLA-B27 es del 7% en la población en general y se ha reportado que menos del 5% desarrollan Espondilitis Anquilosante (AS), pero se ha evidenciado la presencia de este alelo en los pacientes casi en un 90%, con un rango a nivel mundial de 45 a 90%<sup>[19]</sup>, en Colombia se ha reportado que los pacientes con HLA-B27 y SpA son el 39%.<sup>[2]</sup>

### ***1.3 Patogénesis***

Aunque su etiología es desconocida se dice que la patogénesis resulta de factores genéticos inmunológicos y ambientales<sup>[20]</sup>.

Dentro de los factores genéticos, la asociación principal es con las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad HLA, dentro de los cuales las moléculas de clase I especialmente el HLA-B27 es el de mayor asociación en la mayoría de las poblaciones estudiadas. Aparte de estas moléculas se han realizado diversas investigaciones para evidenciar la presencia de otros genes que puedan estar asociados, se han realizado exploraciones del genoma, de las cuales se han evidenciado genes candidatos dentro de diferentes cromosomas la región del cromosoma 11q contiene genes candidatos a la susceptibilidad de AS, incluida la familia de genes de matriz metaloproteasa (11q21-22), la familia de genes de caspasa (11q22), la Interleucina 18 (11q22-23), el receptor de la interleucina 10 (11q23), la familia de genes por el CD3 (11q23) y el antígeno de superficie celular Thy-1 (11q23) <sup>[21, 22]</sup>. Otros genes que se han investigado y se presentan como

candidatos son los genes para la Aminopeptidasa del Retículo Endoplásmico 1 (ERAP1) localizado en el cromosoma 5 en la región 15q<sub>[23]</sub>, el receptor de las células NK (KIR) en la región del cromosoma 12p12.1, nucleótidos de ligadores de oligomerización NOD2 en el 16q12, receptor receptor para la interleucina 23 en el cromosoma 1<sub>[24]</sub>, el receptor del factor de necrosis tumoral y el CYP2D6 en el cromosoma 22 entre otros, aunque su asociación no se mantiene en todas las poblaciones europeas y asiáticas en los cuales se han estudiado <sub>[14, 25]</sub>.

Otro de los factores que se han investigado en el desarrollo de las SpA son los agentes infecciosos, aunque existen estudios discordantes sobre estos. Algunos de los microorganismos implicados como son las bacterias desencadenantes de infecciones gastrointestinales como la *Salmonella*, *Shigella* o *Campylobacter*, las causales de infecciones genitourinarias generalmente debida a *Chlamydia trachomatis* o *Chlamydia pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* en infecciones respiratorias. <sub>[26, 27]</sub>

Aunque la aparición de estas enfermedades se ha asociado a factores genéticos, factores del individuo y factores ambientales aun no se conoce cual es el mecanismo que dispara la aparición de la enfermedad en los individuos genéticamente susceptibles

Se han estudiado otros factores dentro de los cuales están las sustancias químicas que pudieran desencadenar la aparición de la enfermedad, el cigarrillo que aunque en enfermedades autoinmunes como lo es la Artritis Reumatoide si se ha visto una asociación, en las SpA no se ha encontrado dicha asociación, aunque se han realizado pocos estudios en poblaciones europeas<sub>[28]</sub>

## **1.4 PATOGENIA**

Aunque tradicionalmente las SpA se han considerado como un proceso de lenta progresión y buen pronóstico, estudios longitudinales han demostrado que el 80% de los

pacientes con AS tienen restricción de la mayoría de los movimientos de la columna después de 10 años de síntomas y en el 40% de ellos hay marcada limitación funcional con deterioro de su calidad de vida. El comienzo de la enfermedad en edades tempranas (<20 años), el sexo masculino, el predominio de los síntomas axiales y la presencia del HLA-B27, son asociados a mal pronóstico. [17]

De los resultados obtenidos con la caracterización en grandes grupos de pacientes en diferentes regiones, se ha logrado establecer que las uSpA comparten manifestaciones entre la AS y la ARe. De la primera el compromiso axial (sin sacroiliitis importante); de la segunda el compromiso articular periférico y las entesopatías, la presencia del HLA-B27 en este subgrupo es baja y ha sido reportado alrededor del 40% de estos enfermos[11]. La presencia de otro alelo HLA se ha relacionado con mejor pronóstico al ser comparados con individuos HLA- B27 positivos[29].

Estas formas indiferenciadas podrían tener varios significados:

- Un estado temprano de SpA el cual en el tiempo se constituirá como una entidad definida.
- Una forma " frustra" truncada en el desarrollo inicial de las SpA.
- Una sobre posición sindrómica que impide la diferenciación en un subgrupo de SpA.
- Una entidad aún no definida como subcategoría de las SpA.

Existe información que permite suponer que al menos en poblaciones mestizas latinoamericanas las formas uSpA, conformarían una categoría definida de enfermedad, con características propias en lo relacionado con una edad de inicio más tardía y el mejor pronóstico en el tiempo. La ausencia del HLA-B27 y la presencia del HLA-B15, podría explicar este comportamiento[1].



## **1.5 DISTRIBUCION DEL HLA B27**

La prevalencia de la AS en muchas poblaciones es proporcional a la frecuencia del HLA-B27, se observa en la raza blanca una mayor prevalencia, a diferencia de la raza amarilla que ha reportado la menor frecuencia, tanto para la presencia del alelo HLA-B27 y las AS, en la raza afrodescendiente se observa una menor frecuencia de AS y de HLA B27 ya sea en la población norteamericana como en la africana<sup>[12]</sup>. Aunque se considera que las uSpA son las formas más comunes (60% del total de las SpA), estimando su prevalencia en el 1% de la población general<sup>[30]</sup>, en los Estados Unidos de América representa un 40% del total de las SpA<sup>[16]</sup>

Existen por lo menos 90 subtipos de HLA B27<sup>[31]</sup>, no todos se asocian con SpA, a nivel mundial los subtipos más fuertemente asociados son los B\*2705, B\*2704, B\*2702. El B\*2706 y el HLA B\*2709 no parece estar asociado a las SpA, estos subtipos se encuentran en el sureste de Asia y en la isla de Sardinia respectivamente.<sup>[32]</sup>

Aunque el HLA-B27, se ha asociado a las SpA en muchas poblaciones y se propone como un factor de predisposición genética con un riesgo genético del 16%<sup>[14, 33]</sup>, existen otros alelos que se han asociado en diferentes poblaciones estos son los alelos HLA-B60, B14, B15, entre otros.<sup>[1, 29, 34-37]</sup>.

## **2 COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD**

El Sistema del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) ocupa una región de aproximadamente 3 centimorgans, dentro del brazo corto del cromosoma 6 en la región p21.3. La región del HLA tiene una extensión de 3,5 pares de bases, contiene más de 200 genes que se han divididos en tres regiones dependiendo de su estructura y función denominándose Clase I, Clase II y Clase III. <sup>[31, 38]</sup>

La clase I está compuesta por los tipos: A, B y C los cuales se expresan en casi todas las células nucleada; la clase II por DP, DQ y DR, expresándose únicamente en las células presentadoras de antígenos; la Clase III por los genes que codifican proteínas relacionadas con la respuesta inmune: sistema del complemento; factor de necrosis tumoral alfa y beta; las proteína de choque térmico (HSP), entre otros. Los genes que codifican el HLA son los más polimórficos en el genoma humano, debido al número de genes que codifican cada uno los componentes del CMH en cada cromosoma: tres para la Clase I y tres o cuatro para la Clase II [39, 40]. Hasta octubre del 2012 se conocen 2132 alelos para HLA-A, 2768 alelos para HLA-B, 1672 alelos para HLA-C, 1304 alelos para el HLA-DR, 228 alelos para HLA-DQ y 194 alelos para DP.[31]

La función principal del HLA es diferenciar entre lo propio y lo extraño, para tal motivo las moléculas clase I presentan los péptidos intracelulares a los linfocitos T CD8+ y las moléculas clase II presentan péptidos extracelulares a los LT CD4+.[39] Otra característica es la presencia de desequilibrio de ligamiento (LD) entre los alelos. A pesar del gran número de alelos que puede ser expresado en cada loci, los haplotipos observados en las poblaciones, es menor que el esperado. Este hecho indica que ciertos alelos HLA tienden a ocurrir juntos en el mismo haplotipo, en lugar de separarse por el azar. [39]

El análisis de los haplotipos específicos del HLA, ha sido surgido como un método de estudio de las enfermedades asociadas genéticamente con estas moléculas. Los haplotipos que se heredan con un patrón determinado de ligamiento, focaliza las posibilidades de estudio en estos grupos de genes, no a la universalidad de combinación que podrían producirse por el azar. Es de especial interés el estudio de la asociación de complejo del HLA con diferentes enfermedades reumáticas, dada su estrecha relación con la respuesta inmunitaria y los mecanismos efectores de la inflamación. [39, 41]

La más fuerte asociación reportada entre una enfermedad y el HLA, es la establecida por el HLA-B27 y la AS<sub>[20, 25, 33, 37]</sub>, la cual ha traspasado las barreras de las razas y los

continentes. Aunque se ha reportado que el HLA-B27 contribuye en un 16-50% del riesgo total genético en el desarrollo de la enfermedad, aún no se ha podido asociar de forma concluyente ningún otro gen a la susceptibilidad de la enfermedad o su expresión fenotípica<sup>[42]</sup>.

Otras moléculas de HLA diferentes al B27 han sido asociadas con las SpA como lo son los alelos de clase I HLA B14, B40, B39 y alelos Clase II DR\*01, DR\*08. Estudios recientes relacionan el HLA-B15 con las uSpA en población mexicana y tunesina.<sup>[29, 37]</sup>

## ***2.1 HLA B15***

El HLA-B15 es el más polimórfico de los genes HLA Clase I, se han identificado más de 150 alelos con más de 140 variantes mediante técnicas moleculares. En él se han agrupado diferentes subgrupos serológicos: B62, B63, B75, B76, B77, B70, B71 y B72. <sup>[31]</sup>

Adicionalmente, se ha reportado la presencia del alelo HLA-B15 con periodontitis crónica y agresiva, el Síndrome de Stevens–Johnson y la necrólisis epidérmica tóxica<sup>[43]</sup>. Se debe tener en cuenta la relación que hay entre el modelo de infección y respuesta inmune de la enfermedad periodontal y el asociado a las SpA.

## ***2.2 Asociación HLA-B15 y Espondiloartritis***

La primera asociación reportada entre las SpA y el HLA-B15 la describió en 1995 Mielants y colaboradores, describiendo una cohorte de pacientes asociada con la presencia del HLA-B15 y ausencia del HLA -B27, dicha cohorte de pacientes presentó una asociación con remisión clínica de las uSpA y la presencia del alelo HLA-B15, proponiendo así los autores que este sea un alelo de susceptibilidad de la enfermedad, que las formas tengan un mejor pronóstico y que este no depende de la presencia del HLA-B27. <sup>[44-46]</sup>

Posteriormente en el año 2002 Vargas y Colaboradores, encontraron la presencia del alelo HLA-B15 como uno de los alelos asociado a las formas de AS, ReA e uSpA<sub>[29]</sub>. En el año 2005 se reportó que en la población colombiana en la cohorte del pacientes del Hospital Militar Central se asociaba la presencia del alelo<sub>[47]</sub>. En el año 2009 Siala y colaboradores en población tunesina reportan la asociación del alelo B15 en ReA y artritis indiferenciadas <sub>[37]</sub>

### **3 PROYECTO DE INVESTIGACION**

#### ***3.1 Justificación***

Existe información que permite suponer que al menos en poblaciones mestizas latinoamericanas las formas uSpA, conformarían una categoría definida de enfermedad, con características propias en lo relacionado con una edad de inicio más tardía y un mejor pronóstico en el tiempo. La ausencia del B27 y la presencia del B15, podría explicar este comportamiento<sub>[48]</sub>. De la misma forma el establecer una relación entre la enfermedad y subtipo específico de B15 daría un sentido biológico a la relación y abriría un campo de investigación en procura de mejor información relacionada con la etiología de la enfermedad.

#### ***3.2 Objetivos***

##### **3.2.1 Objetivo General:**

Estudiar el polimorfismo del Antígeno de Histocompatibilidad B15 (HLA-B15) en la población colombiana con Espondiloartritis indiferenciada del Hospital Militar Central.

### **3.2.2 Objetivos Secundarios:**

- Determinar la prevalencia de HLA-B15 en estos pacientes y establecer su asociación con la enfermedad mediante la comparación con controles sanos.
- Determinar las formas más frecuentes del polimorfismo del HLA-B15 en esta población y establecer la asociación con la enfermedad mediante la comparación con controles sanos.
- Caracterizar los subtipos (polimorfismo más frecuente encontrado) del HLA-B15 con los hallazgos clínicos y los factores pronósticos de las SpA.

### **3.3 METODOLOGIA:**

Se realizó un Estudio analítico transversal de casos y controles anidado en una cohorte perteneciente a los usuarios del Sistema de Salud de las Fuerzas Militares atendidas en el Servicio del Hospital Militar Central

#### **3.3.1 Población:**

Pacientes atendidos en el Servicio de Reumatología del Hospital Militar Central-Universidad de La Sabana en la Clínica de Espondiloartritis, evaluados por un reumatólogo experto y bajo los criterios diagnósticos del Colegio Americano de Reumatología (ACR), La Liga Europea para el Diagnóstico y el Tratamiento de Enfermedades Reumáticas (EULAR) y el Grupo ASAS [9].

A los pacientes se les realizó:

- Explicación y firma del consentimiento informado
- Recolección de información mediante un instrumento estructurado y previamente validado durante la entrevista directa. En él se consignó información socio demográfica, los antecedentes personales más importantes, los antecedentes de

la enfermedad, los tratamientos recibidos, el estado actual de actividad de la enfermedad, el grado de discapacidad y alteración de la calidad de vida.

- Exámenes diagnósticos: Resonancia Nuclear Magnética de articulaciones sacro iliacas con contraste y supresión de grasa, marcadores séricos de inflamación VSG y PCR, el cuadro hemático, la función renal y hepática, entre otros.
- Se tomó muestra sanguínea para extracción de DNA y procesamiento del HLA por técnica SSP y subtipificación de HLA-B15 por secuenciación.
- El paciente completó los cuestionarios de clinimetría: calidad de vida (SF-12), actividad de la enfermedad (BASDAI) y función física (BASFI)<sub>[49]</sub>.

Toda la información recolectada se anexó a la historia clínica del paciente y a su vez consignada en una base de datos, revisada y depurada.

### **3.3.2 Tamaño de muestra:**

Utilizando la formula de proporciones para el cálculo de tamaño de muestra, tomando como referencia la frecuencia del HLA-B15 encontrada en un grupo de pacientes mexicanos con el subgrupo de u-SpA de 30% y de 13% en controles sanos, con un nivel de significado estadístico de  $p < 0.05$  y un poder del 80%, se hace necesario el estudio de un número aproximado de 50 pacientes por grupo para alcanzar los objetivos planteados en este proyecto. Para lograr reunir la información de estos pacientes es necesario evaluar un número aproximado de 150 paciente con diagnostico general de SpA y 50 controles

### **3.3.3 Selección de los pacientes**

Los pacientes que ingresaron al estudio tenían los siguientes criterios de inclusión y exclusión

#### **3.3.3.1 Criterios de inclusión:**

- Pacientes Mayores de 18 años

- Valoración clínica de SpA del Hospital Militar Central por el Reumatólogo Experto
- Cumplimiento de los Criterios del ESSG para la clasificación de SpA. Para los pacientes con EA, se utilizaran los criterios Modificados de New York en el año de 1984, validados por el ESSG. [9, 21]
- Aceptación y firma del paciente del consentimiento informado
- Pacientes que tuvieron diagnóstico establecido por la Clínica de SpA, incluyendo la tipificación de HLA clase I y II, Resonancia Nuclear Magnética de las Articulaciones Sacro iliacas con contraste y supresión de grasa.
- Diligenciamiento completo del formulario de recolección de información utilizado por la clínica de SpA del Hospital.
- Pacientes que completaron los instrumentos de clinimetría

#### **3.3.3.2 Criterios de Exclusión:**

- Pacientes con discapacidad que haya impedido la realización de una adecuada Historia clínica.
- Pacientes con diagnóstico de Artropatía Psoriasica y Artropatía relacionada con Enfermedad inflamatoria Intestinal.
- Pacientes que hayan expresado su voluntad de no participar

#### **3.3.3.3 Criterios de Eliminación:**

- Pacientes en los que no se cuente con la información clínica, radiológica o inmunogenética (HLA) durante el tiempo que duró el estudio.

#### **3.3.3.4 Selección de los controles para HLA.**

- Se tomaron como individuos control, aquellos donantes del programa de trasplante de órganos del Hospital Militar que posterior al conocimiento del proyecto, dieron su asentimiento durante la firma de un consentimiento

informado. Para eliminar los sesgos en la selección de esta población control se buscaron individuos con las mismas características sociodemográficas que los enfermos.

### ***3.4 Recolección y manejo de muestras***

Previo consentimiento del paciente, con la debida asepsia y teniendo en cuenta los protocolos establecidos, las muestras de sangres venosa, se tomaron por el personal capacitado, vinculado al Hospital Militar Central ó Universidad de Los Andes

#### **3.4.1 Conservación y Transporte de muestras**

Tras obtener la muestra de sangre mediante punción venosa y empleando el sistema al vacío para su recolección en tubos con EDTA. La muestra se conservó en nevera entre 4°C y 8°C y se refrigeró durante y hasta su transporte al Laboratorio de Diagnostico Molecular y Bioinformática (LDMB), mediante el protocolo de cadena custodia, lo cual fue antes de las 48 horas posterior a la toma de la muestra. Se llevó del Hospital Militar al LDMB.

**NOTA:** Cada muestra debe ser rotulada con el código del paciente.

#### **3.4.2 Metodología para el procesamiento de las muestras**

Se realizó la extracción de DNA mediante protocolos estandarizados utilizando la metodología de un estuche Wizard® Genomic DNA purification Kit Protocol de la casa comercial Promega®. Se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) mediante la secuencia de primers específica (SSP), del estuche comercial HLA ABDR SSP marca Biotest para la tipificación de los alelos A, B y DR



Para la determinación de los subtipos de HLA B15 se utilizó la técnica de secuenciación del estuche comercial Allele SEQR HLA B de la casa comercial Applied Biosystem<sup>®</sup> el cual determina la secuencia de los exones 2, 3 y 4 del alelo HLA B, posteriormente la secuencia se sometió al análisis bioinformático utilizando la base IMGT/HLA determinando así el subtipo

### ***3.5 Análisis estadístico***

La determinación del estado de equilibrio de ligamiento genético de la población de pacientes estudiada con respecto a los controles, se comprobó por el método Hardy-Weinberg. Para esto se utilizó el programa estadístico Arlequin<sup>®</sup> versión 3.5<sub>[50]</sub>. Para establecer la diferencia en la frecuencia de los alelos entre la población de pacientes se utilizó el programa Genepop versión del 23 de abril de 2011 <sub>[51]</sub> y en la población control se comparan las frecuencias alélicas mediante la prueba de Chi cuadrado, con corrección de Bonferroni.

Para la presentación y análisis de variables categóricas se utilizaron distribuciones de frecuencia, porcentajes y tablas comparativas. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante Chi Cuadrado. Con corrección de Yates cuando fue necesario. Para la presentación de las variables numéricas se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión. De acuerdo a la distribución de normalidad de los datos se utilizaron para la comparación de los resultados pruebas paramétricas (t- Student) o no paramétricas (Test de Wilcoxon). Se estableció un valor de P de significancia estadística menor o igual a 0.05 e intervalos de confianza del 95%. Se utilizó el programa estadístico SPSS 19.0 (SPSS Inc, USA).

### 3.6 Aspectos Éticos:

El presente estudio ha sido aprobado por los comités de ética del Hospital Militar Central y la Universidad de Los Andes, se considera riesgo mínimo de acuerdo con la Resolución Nacional 008430 de 1993, en el artículo 11 apartado b. Durante todo el proceso de revisión de la información, construcción de la base de datos, análisis estadístico y la producción final de los informes se mantuvo y mantendrá la confidencialidad de los datos y se cuidará de no utilizar información que permita la identificación de los pacientes. Adicionalmente para el consentimiento informado se tomó en cuenta los artículos 14 y 15 de dicha resolución.

#### REFERENCIAS

1. Londoño J, G.L., Ramirez L, Santos P, Ávila, M, Santos, A.M, Romero, C. Valle, R.R., *Caracterización de las espondiloartropatías y determinación de factores de mal pronóstico en una población de pacientes colombianos*. Revista Colombiana de Reumatología, 2005. **12**(3): p. 195-207S.
2. Valle-Oñate R, C.L., Romero-Sánchez C, Iglesias-Gamarra A, Caballero-Urbe CV, Santos-Moreno P, Reyes E, Londoño J., *Epidemiology of spondyloarthritis in Colombia*. Am J Med Sci. , 2011. **341**(4): p. 293-4.
3. Valle R, L.J., Vélez P, Ávila M, Iglesias A, Cuéllar M, Espinosa L., *Outcome of patients with undifferentiated seronegative spondyloarthritis*. Arthritis Rheum, 1997. **40**(supl 1): p. 270.
4. Londono J, *Evaluación y seguimiento de los pacientes con espondiloartropatías*, in *Espondiloartropatías*, E.L. Valle Oñate E, and Londono J, Editor 2007: Bogota.
5. van der Linden S, v.d.H.D.M.F.M., *Clinical and epidemiologic aspects of ankylosing spondylitis and spondyloarthropathies*. Current opinion in rheumatology, 1996. **8**(4): p. 269.
6. Reveille JD, A.F., *Spondyloarthritis: update on pathogenesis and management*. The American journal of medicine, 2005. **118**(6): p. 592-603.
7. Zeidler H, W.D., Klauder A, Brinkmann S, Viswat M, Mones ML, Hülsemann JL, Keck E., *Undifferentiated arthritis and spondyloarthritis as a challenge for prospective follow-up*. Clinical rheumatology, 1987. **6**: p. 112-120.
8. Sieper J, R.M., Baraliakos X, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Dougados M, Hermann KG, Landewe R, Maksymowych W., *The Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS) handbook: a guide to assess spondyloarthritis*. Annals of the rheumatic diseases, 2009. **68**(Suppl 2): p. ii1-ii44.
9. Dougados M, L.S.V.D., Juhlin R, Huitfeldt B, Amor B, Calin A, Cats A, Dijkmans B, Olivieri I, Pasero G., *The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy*. Arthritis & Rheumatism, 1991. **34**(10): p. 1218-1227.
10. Rudwaleit M, L.R., Van der Heijde D, Listing J, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Collantes-Estevez E, Davis J, Dijkmans B, *The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part I): classification of paper patients by expert opinion including uncertainty appraisal*. Annals of the rheumatic diseases, 2009. **68**(6): p. 770-776.

11. Rudwaleit M, v.d.H.D., Landewé R, Akkoc N, Brandt J, Chou CT, Dougados M, Huang F, Gu J, Kirazli Y., *The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general*. *Annals of the rheumatic diseases*, 2011. **70**(1): p. 25-31.
12. Shapira Y, A.-L.N., Shoenfeld Y., *Geoepidemiology of autoimmune rheumatic diseases*. *Nature Reviews Rheumatology*, 2010. **6**(8): p. 468-476.
13. Ehrenfeld M, *Geoepidemiology: the environment and spondyloarthropathies*. *Autoimmunity Reviews*, 2010. **9**(5): p. A325-A329.
14. Khan MA, M.A., Sorrentino R, Akkoc N., *The pathogenetic role of HLA-B27 and its subtypes*. *Autoimmunity Reviews*, 2007. **6**(3): p. 183-189.
15. Collantes E, Z.P., Muñoz E, Juanola X, Mulero J, Fernández-Sueiro JL, Torre-Alonso JC, Gratacós J, González C, Batlle E., *Disease pattern of spondyloarthropathies in Spain: description of the first national registry (REGISPONSER)—extended report*. *Rheumatology*, 2007. **46**(8): p. 1309-1315.
16. Reveille JD, *Epidemiology of spondyloarthritis in North America*. *The American Journal of the Medical Sciences*, 2011. **341**(4): p. 284-292.
17. Burgos-Vargas R, P.-B.I., *Epidemiology of spondyloarthritis in México*. *The American Journal of the Medical Sciences*, 2011. **341**(4): p. 298-300.
18. Márquez J, P.L., Candia D, Restrepo M., *Espondiloartritis en el Hospital Pablo Tobón Uribe. Descripción de una cohorte*. *Rev Col Reum*, 2010. **17**: p. 80-85.
19. Reveille JD, *The genetic basis of ankylosing spondylitis*. *Current opinion in rheumatology*, 2006. **18**(4): p. 332-341.
20. Chandran V, R.P., *Update on the genetics of spondyloarthritis-ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis*. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2010. **24**(5): p. 579-588.
21. Schiotis RE, R.-N.F., Burgos-Vargas R, Collantes-Estévez E., *Panorama de la clasificación y la susceptibilidad genética de las espondiloartritis*. *Reumatología Clínica*, 2008. **4**(8-16).
22. Brown MB, M.A., *Non-major-histocompatibility-complex genetics of ankylosing spondylitis*. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2006. **20**(3): p. 611-621.
23. Young Ho Lee, S.J.C., Jong Dae Ji and Gwan Gyu Song, *Associations between ERAP1 polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility: a meta-analysis*. *Inflamm Res*, 2011. **60**(11): p. 999 -1003.
24. Lee YH, C.S., Ji JD, Song GG., *Associations between interleukin-23R polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility: a meta-analysis*. *Inflamm Res*, 2012. **60**(11): p. 999 -1003.
25. Saraux A, G.F., Guggenbuhl P, Roux C, Fardellone P, Bihan E, Cantagrel A, Chary-Valckenaere I, Euller-Ziegler L, Flipo R, Juvin R, Behier J, Fautrel B, Masson C and, Coste J, *Prevalence of spondyloarthropathies in France:2001*. *Annals of the rheumatic diseases*, 2005. **64**: p. 1431-1435.
26. Chou C. T, L.K.C., Wei J. C. C, Tsai W. C, Ho H.H, Hwang C.M, Cherng, J.M, Hsu C.M and Yu D.T, *Study of undifferentiated spondyloarthropathy among first-degree relatives of ankylosing spondylitis probands*. *Rheumatology*, 2005. **44**(1483-1491).
27. Ehrenfel M, *Spondyloarthropathies*. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 2012. **26**: p. 135 - 145.
28. Chung HY, M.P., van der Heijde D, D'Agostino MA, Dougados M., *Smokers in early axial spondyloarthritis have earlier disease onset, more disease activity, inflammation and damage, and poorer function and health-related quality of life: results from the DESIR cohort*. *Ann Rheum Dis*, 2012. **71**(6): p. 809-16.
29. Vargas-Alarcon G, L.J., Hernandez-Pacheco G, Pacheco-Tena C, Castillo E, Cardiel MH, Granados J, Burgos-Vargas R., *Effect of HLA-B and HLA-DR genes on susceptibility to and severity of spondyloarthropathies in Mexican patients*. *Annals of the rheumatic diseases*, 2002. **61**(8): p. 714.
30. Akkoc N, K.M.A., *Epidemiology of ankylosing spondylitis and related spondyloarthropathies*. *Ankylosing spondylitis and the spondyloarthropathies*. Philadelphia: Mosby, 2006: p. 117-31.
31. Alleles. <http://hla.alleles.org>. 2011.
32. Feltkamp TEW, *HLA-B27 and B27-Subtypes in the Pathogenesis of Ankylosing Spondylitis*. *Current Rheumatology Reviews*, 2005. I: p. 223 - 225.

33. Khan MA, M.A., Sorrentino R, Akkoc N. , *The pathogenic role of HLA-B27 and its subtypes*. Autoimmun Rev, 2007. **6**.
34. Wagener P, Z.H., Eckert G, Deicher, H., *Increased frequency of HLA-Bw 62 and Bw 35 CREG antigens in HLA-B27 negative ankylosing spondylitis*. Zeitschrift für Rheumatologie, 1984. **43**(5): p. 253-257.
35. Siala, M., et al, *MHC class I and class II genes in Tunisian patients with reactive and undifferentiated arthritis*. Clin Exp Rheumatol, 2009. **27**(2): p. 208 - 213.
36. Silva-Ramirez, B., et al., *HLA antigens and juvenile onset spondyloarthritides: negative association with non-B27 alleles*. Clin Exp Rheumatol, 2005. **23**(5): p. 721 - 3.
37. Siala M, M.N., Fourati H, Gdoura R, Younes M, Kammoun A, Chour I, Meddeb N, Gaddour L, Hakim F, *MHC class I and class II genes in Tunisian patients with reactive and undifferentiated arthritis*. Clinical and experimental rheumatology, 2009. **27**(2): p. 208-213.
38. Marsh S, E.D.A., W. F. Bodmer, R. E. Bontrop, B. Dupont, H. A. Erlich, M. Ferná ndez-Viñ a, D. E. Geraghty, R. Holdsworth, C. K. Hurley, M. Lau, K. W. Lee, B. Mach, M. Maiers, W. R. Mayr, C. R. Müller, P. Parham, E. W. Petersdorf, T. Sasazuki, J. L. Strominger, A. Svejgaard, P. I. Terasaki, J. M. Tiercy & J. Trowsdale, *Nomenclature for factors of the HLA system, 2010*. Tissue Antigens, 2010. **75**(4): p. 291 - 455.
39. Choo S, *The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing and Clinical Implications*. Yosei Medical Journal, 2007. **48**(1): p. 13.
40. Kulski K, S.A., Shiina T, Ota M, Hosomichi K, James I and Inoko H. , *Human Endogenous Retrovirus (HERV9) Structural Polymorphism With Haplotypic HLA-A Allelic Associations*. Genetics, 2008. **180**: p. 3.
41. Reveille J, *Major histocompatibility genes and ankylosing spondylitis*. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 2006. **20**: p. 9.
42. Bettencourt, B.F., et al., *Evaluation of two methods for computational HLA haplotypes inference using a real dataset*. BMC Bioinformatics, 2008. **9**: p. 68.
43. Lee, K.W., H. Jeon, and J.Y. Park, *HLA-B\*15 diversity in the Korean population*. Tissue Antigens, 2000. **56**(5): p. 428-35.
44. Mielants H, V.E., De Vos M, Cuvelier C, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Elewaut D., *The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. I. Clinical aspects*. The Journal of rheumatology, 1995. **22**(12): p. 2266.
45. Mielants H, V.E., Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Elewaut D., *The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. II. Histological aspects*. The Journal of rheumatology, 1995. **22**(12): p. 2273-8.
46. Mielants H, V.E., Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Gyselbrecht L, Elewaut D., *The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. III. Relation between gut and joint*. The Journal of rheumatology, 1995. **22**(12): p. 2279-84.
47. Londoño J, G.L., Ramírez L, Santos P, Ávila M, Santos AM, Romero C, Valle R. , *Caracterización de las espondiloartropatías y determinación de factores de mal pronóstico en una población de pacientes colombianos*. Rev Col Reumatol, 2005. **12**: p. 12.
48. Londoño J, G.L., Ramírez A, Santos P, Ávila LM; SantosAM, Romero C, Valle R. , *Caracterización de las Espondiloartropatías y determinación de factores de mal pronóstico en una población de pacientes colombianos*. Revista Colombiana de Reumatología, 2005. **12**(3): p. 195-207.
49. Cardiel MH, L.J., Gutiérrez E, Pacheco-Tena C, Vázquez-Mellado J, Burgos-Vargas, R., *Translation, cross-cultural adaptation, and validation of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) and the Dougados Functional Index (DFI) in a Spanish speaking population with spondyloarthropathies*. Clinical and experimental rheumatology, 2003. **21**(4): p. 451.
50. Excoffier L. *Arlequin suite ver 3.5* 2010.
51. Raymond M, R.F. *Genepop on the Web*. 2011.

## CAPITULO 2. ANALISIS GENETICO

### ASSOCIATION OF HLA-B ANTIGENS IN COLOMBIAN PATIENTS WITH DIAGNOSIS OF SPONDYLOARTHRITIS (SpA).

**Background:** There is substantial evidence that non-B27 MHC genes are SpA -associated. There is information related to association of diseases with presence of HLA-B15 in Mexican and Tunisian population

**Objectives:** To evaluate the association of HLA-B antigens in a group of Colombian patients with established diagnosis of SpA.

**Methods:** A total of 189 patients with diagnosis of SpA according to the European Spondyloarthropathy Study Group Classification Criteria, were evaluated in an outpatient clinic between 2001 and 2011 in Bogota City. Demographic, clinical, radiological and laboratory findings (including HLA typing) were collected following the ASAS recommendations. A total of 189 patients have a complete characterization of HLA allele A, B, and DR. 100 unrelated healthy subjects were included in the study as a control group. The comparison between the different allele frequencies in the patient groups and the control population was performed using chi-square, with Bonferroni correction, a p-value <0.05 was considered to be significant. The magnitude of association was assessed using odds ratio (OR) and confidence intervals of 95%. To establish the homogeneity of the groups studied, we used the Hardy-Weinberg disequilibrium.

**Results:** 189 patients (ReA: 35; AS: 87 and uSpA: 67); 119 (63,8%) men and 68 (36,2%) women, with an average age of  $35.9 \pm 12.7$  years were studied. 77 (40,7%) patients were HLA-B27+ (AS: 46 (52,9%), 16 (45,7%) ReA, 15 (22,4%) uSpA), axSpA 71 (42,5%) and pSpA 59 (34,5%) while it was present in 7 (4,1%) of controls. 44 (23,3%) patients were HLA-B15 + (AS 18 (20,6%), 8 (17,1%) ReA, 16 (23,8%) uSpA, axSpA 21 (12,57%) and pSpA 20 (11,7%). Two (2%) of controls were positive for HLA-B15. In addition to analyze the HLA DR was observed the association with HLA DRB1\*01 were AS: 51 (58,6%), 7 (20%) ReA, 13 (19,4%) uSpA, axSpA 71 (42,5%), pSpA 36 (21,1%) and 5% of controls were positive. HLA DRb1\*04

were AS: 62 (71,2%), 8 (22,8%) ReA, 27 (22,8%) uSpA, AxSpA 26 (15,5%), pSpA 27 (15,7%) and 11% of controls were positive

**Conclusions:** In this population there is a strong association between the presence of HLA-B27 and the diagnosis of SpA, but the HLA-B15 is also significantly associated with all subtypes of disease. Additionally, the association with HLA DR1 and DR4 in a cohort of patients with SpA in Colombia.

## INTRODUCCION

Las Espondiloartritis (SpA) son un grupo heterogéneo de enfermedades reumáticas inflamatorias crónicas que comparten características clínicas radiológicas e inmunogenéticas. Comprometen las articulaciones del esqueleto axial y de los miembros inferiores. Se asocian a manifestaciones extraarticulares en piel, ojos y mucosas.<sup>(1)</sup> Pertenecen al grupo: la Espondilitis Anquilosante (AS), la Artritis Reactiva (ReA), la Espondiloartritis indiferenciada (uSpA), la Artritis Psoriásica (PsA) y la artritis asociada a la enfermedad inflamatoria intestinal. Afectan predominantemente a hombres menores de 45 años, y tienen tendencia a la agregación familiar relacionada con la susceptibilidad genética ligada al complejo mayor de Histocompatibilidad (HLA).

En su etiología han sido implicados factores genéticos y ambientales. La asociación del HLA-B27 con las SpA, ha traspasado barreras raciales y geográficas<sup>(2)</sup>. La carga genética en el origen de la enfermedad puede ser explicada por este alelo entre el 16 y el 50% de la susceptibilidad, por lo que se ha tratado de establecer asociación con otros genes ligados al desarrollo de la enfermedad. <sup>(3)</sup> Estudios recientes utilizando técnicas de escaneo de genes (GSC) en pacientes con AS, han postulado otros genes diferentes al HLA, los más destacados genes para la Aminopeptidasa del Retículo Endoplásmico 1 (ERAP1) en la región 15q<sup>(4, 5)</sup>, el Receptor para la interleucina 23 en el cromosoma 1<sup>(6)</sup> y el receptor del factor de necrosis tumoral<sup>(7)</sup>

Otros genes del HLA han sido asociados a las SpA principalmente de la Clase I pertenecientes al alelo B: HLA-B7<sub>(8)</sub>, HLA-B14<sub>(9)</sub>, HLA-B15<sub>(10)</sub>, HLA-B40, <sub>(11, 12)</sub>, HLA-B39<sub>(13)</sub>. Como también alelos Clase II: HLA-DR\*01<sub>(1, 14)</sub>, y HLA-DR\*04<sub>(15)</sub>.

Recientemente se ha reportado la asociación del HLA-B15 en poblaciones latinoamericanas y norte de África, principalmente relacionando a formas periféricas y uSpA, sugiriendo que este marcador puede estar implicado a un patrón de presentación de la enfermedad.<sub>(16-18)</sub>

El objetivo de éste estudio fue establecer la asociación del los alelos HLA-A,-B y DR en pacientes con diagnostico establecido de SpA en población colombiana.

### **Material y métodos:**

Un total de 189 pacientes con diagnostico de SpA de acuerdo con los criterios del grupo europeo para el estudio de las SpA (ESSG), atendidos en el Hospital Militar Central en Bogotá, durante enero del 2001 y noviembre de 2011, fueron ingresados al estudio. Se excluyeron pacientes con diagnostico de Artropatía Psoriásica y Artropatía relacionada con Enfermedad inflamatoria Intestinal, dada la baja frecuencia de estas enfermedades en la población estudiada. Todos los pacientes contaban con la tipificación completa para el HLA-A, B y DR, radiografía de pelvis y resonancia nuclear magnética de articulaciones sacroilíacas. La información clínica y los antecedentes relacionados con la enfermedad se recogieron siguiendo las recomendaciones del grupo ASAS utilizando un formulario estructurado previamente validado<sub>(19, 20)</sub>

### **TIPIFICACION HLA**

A todos los pacientes se le tomaron muestras sanguíneas en tubos con EDTA para la extracción de DNA mediante el estuche comercial de Wizard Genomic DNA Purification referencia A1120 marca PROMEGA® según las especificaciones del comerciante, después de la extracción de DNA se ajusto la concentración a  $80 \pm 20$  ug/ul y se realizó una electroforesis para la verificación del DNA, posteriormente se almacenaron a -80°C hasta

el procesamiento de HLA. Para la determinación se realizó la técnica de PCR utilizando primers de secuencia específica (PCR-SSP) del estuche comercial de Biotest HLA-ABDR SSPtray marca BioRad, este contiene una placa con 96 pozos el cual determina los alelos A, B y la cadena b1 del DR. Se verificó el producto de reacción mediante una electroforesis en geles de agarosa al 2%, Se visualizaron las bandas en un fotodocumentador de luz ultravioleta para ser interpretado posteriormente mediante el programa de BioRad®.HLA SSP Typing Software V 1.2.0.0 Bio-Rad Medical Diagnostics GmbH

### **Población control**

Como controles se utilizo la información de tipificación de HLA-ABDR de 100 individuos sanos no relacionados familiarmente, quienes no tenían antecedentes ni síntomas reumáticos y provenientes de las mismas regiones geográficas de los pacientes.

Para la determinación del estado de equilibrio de ligamiento genético de la población de pacientes estudiada con respecto a los controles, se utilizo el método Hardy-Weinberg mediante el programa estadístico Arlequin® versión 3.5.<sup>(21)</sup> Para establecer la diferencia en la frecuencia de los alelos (fa) entre la población de pacientes se utilizo el programa Genepop versión del 23 de abril de 2011<sup>(22)</sup>.

### **Estadística**

Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico SPSS 19.0 (SPSS Inc, USA). La comparación de los alelos se realizó mediante la prueba de Chi cuadrado con corrección de Bonferroni. Se estableció un valor de significado estadístico a una  $p < 0,05$ . La determinación del grado de asociación de los diferentes alelos se hizo mediante la determinación del OR e intervalos de confianza del 95%.

### **Fondos.**

El presente trabajo contó para su financiamiento con recursos de La Universidad de La Sabana y La Universidad de Los Andes.



## Aspectos éticos

El presente trabajo contó con la aprobación de Los comités de ética de la Universidad de Los Andes, La Universidad de La Sabana y el Hospital Militar Central.

## RESULTADOS

### Características generales de la población.

Las características demográficas y principales hallazgos clínicos de la población incluida en el presente estudio son descritas en la Tabla 1. La mayoría fueron hombres, menores de 45 años en los que predominaron los enfermos con AS y uSpA. Los pacientes en general tuvieron una presentación mixta de la enfermedad con compromiso axial y periférico.

**TABLA 1. CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS PACIENTES**

CARACTERISTICAS	PACIENTE n= 187
Edad actual (años)	35,91 ± 12,7
Edad de inicio de los síntomas(años)	28,12 ± 12,7
Sexo	
Hombre (%)/Mujer(%)	119(63,8%)/68(36,2%)
Relación H:M	1,75:1
Subgrupo SpA	
Espondilitis Anquilosante	87 (46,03%)
Espondilitis Indiferenciada	67 (35,5%)
Artritis Reactiva	35 (18,52%)
Criterios ASAS	
Axial	167 (88,4%)
Periférico	171 (90,47%)

## Alelos de HLA y SpA.

En total se encontraron 20 alelos para el locus HLA-A, 28 alelos para el locus HLA-B y 13 alelos para el locus HLA-DR. El alelo de A más frecuente en los controles y los pacientes fue el A\*02 con una *fa* del 23%. El alelo de B más frecuente en los controles fue el B35 con *fa* del 15.8% y el B27 en los pacientes con *fa* del 20.4%. El alelo de DR más frecuente en controles fue el DR15 con *fa* del 15% y DR4 en pacientes con *fa* de 17%. Tabla 2.

**TABLA 2. PRINCIPALES FRECUENCIAS ALELICAS**

	ALELO	CONTROLES	SpA	uSpA	AS	ReA	axSpA	pSpA	TOTAL
A	*02	0,1923	0,2500	0,3070	0,2208	0,2083	0,2615	0,2615	0,2309
	*11	0,0256	0,0443	0,0439	0,0390	0,0625	0,0204	0,0192	0,0381
	*23	0,0513	0,0222	0,0175	0,0260	0,0208	0,0170	0,0423	0,0318
	*24	0,1667	0,1772	0,1579	0,1753	0,2292	0,1293	0,1192	0,1737
	*26	0,0385	0,0253	0,0263	0,0325	0,0000	0,0238	0,0269	0,0297
	*29	0,1410	0,0759	0,0614	0,0909	0,0625	0,0238	0,0231	0,0975
	*34	0,0000	0,0032	0,0088	0,0000	0,0000	0,0034	0,0038	0,0021
	*69	0,0000	0,0032	0,0088	0,0000	0,0000	0,0034	0,0038	0,0021
	*74	0,0000	0,0032	0,0000	0,0065	0,0000	0,0000	0,0000	0,0021
	*80	0,0064	0,0032	0,0000	0,0000	0,0208	0,0032	0,0000	0,0042
B	*07	0,0647	0,0682	0,0476	0,0915	0,0484	0,0706	0,0714	0,0670
	*14	0,0294	0,0341	0,0317	0,0366	0,0323	0,0337	0,0272	0,0326
	*15	0,0118	0,1222	0,1508	0,1098	0,0968	0,1319	0,1395	0,0862
	*27	0,0412	0,2045	0,1111	0,2622	0,2419	0,2055	0,1939	0,1513
	*35	0,1588	0,1051	0,1508	0,0610	0,1290	0,1074	0,1020	0,1226
	*37	0,0235	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0077
	*39	0,0471	0,0284	0,0317	0,0305	0,0161	0,0276	0,0272	0,0345
	*40	0,0588	0,0682	0,0794	0,0610	0,0645	0,0675	0,0714	0,0651
	*58	0,0235	0,0085	0,0000	0,0122	0,0161	0,0092	0,0102	0,0134
	*61	0,0059	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0019
DRB1	*01	0,0500	0,1460	0,1034	0,1883	0,1154	0,1447	0,1370	0,1269
	*03	0,1000	0,0807	0,0862	0,0844	0,0577	0,0559	0,0593	0,0846
	*04	0,1375	0,1739	0,2069	0,1688	0,1154	0,1776	0,1815	0,1667
	*06	0,0500	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0592	0,0593	0,0100
	*07	0,1125	0,1025	0,1207	0,0974	0,0769	0,0921	0,0815	0,1045
	*09	0,0125	0,0342	0,0431	0,0195	0,0577	0,0296	0,0333	0,0299
	*11	0,0375	0,0870	0,0690	0,0779	0,1538	0,0164	0,0185	0,0771
	*13	0,0500	0,1025	0,0862	0,1169	0,0962	0,0559	0,0593	0,0920

*15	0,1500	0,1056	0,1034	0,0974	0,1346	0,0658	0,0593	0,1144
*16	0,0250	0,0217	0,0345	0,0130	0,0192	0,0132	0,0111	0,0224

AxSpA = Espondiloartritis con compromiso axial, pSpA = Espondiloartritis con compromiso periférico, AS = Espondilitis Anquilosante, uSpA = Espondiloartritis indiferenciada, ReA = Artritis Reactiva

Los resultados obtenidos de las *fa* de los diferentes alelos en relación con el total de pacientes con SpA y los subtipos de SpA, incluyendo la clasificación en formas axiales y periféricas propuesta por ASAS son descritos en la siguiente tabla. Tabla 3.

**TABLA 3. ALELOS ASOCIADOS A SPA**

HLA	SPA	AxSpA	pSpA	AS	uSpA	ReA	CONTROL
<b>A*23</b>							
<b>n</b>	9	5	3	4	3	2	12
<b>FA</b>	0,022	0,0170	0,0423	0,026	0,0175	0,0208	0,0513
<b>OR</b>	0,37	0,3121	0,1341	0,3534	0,3438	0,444	
<b>IC</b>	0,14-0,98	0,10 – 0,95	0,03 - 0,48	0,10 – 1,13	0,09 – 1,26	0,09– 2,09	
<b>p</b>	0,48	0,064	0,1416	0,071	0,0954	0,357	
<b>B*15</b>							
<b>n</b>	44	21	20	18	20	6	2
<b>FA</b>	0,1222	0,0337	0,0272	0,1098	0,1508	0,0968	0,0118
<b>OR</b>	14,87	8,22	15,45	13,16	20,85	10,14	
<b>IC</b>	3,42 – 90,82	1,89 – 35,59	3,64 – 65,44	2,8 – 85,05	4,42 – 134,9	1,71 – 77,28	
<b>pC</b>	<0.000	<0.000	<0.000	0,0008	<0.000	0,0306	
<b>B*27</b>							
<b>n</b>	77	71	59	46	15	16	7
<b>FA</b>	0,2045	0,2055	0,1939	0,2622	0,1111	0,2419	0,041
<b>OR</b>	9,13	9,8	6,99	15,7	13,8	11,2	
<b>IC</b>	3,8 – 22,8	4,29 – 22,47	3,05 – 16,05	6,1 – 41,8	1,4 – 11,2	3,7 – 35,3	
<b>pC</b>	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	0,1092	<0.000	
<b>DRB1*01</b>							
<b>n</b>	51	71	36	13	13	7	5
<b>FA</b>	0,1460	0,1447	0,1370	0,1883	0,1034	0,1154	0,0500
<b>OR</b>	7,02	5,2	5,8	10,51	4,57	4,75	
<b>IC</b>	2,57 – 20,8	1,97 – 13,8	2,21 – 15,25	3,8 – 28,6	1,54 – 13,52	1,39 – 16,13	
<b>pC</b>	0.00001	0.0073	0.0022	0.0013	0,094	0.1716	
<b>DRB1*04</b>							
<b>n</b>	62	26	27	27	27	8	11
<b>FA</b>	0,1739	0,1776	0,1815	0,1688	0,2069	0,1154	0,1375
<b>OR</b>	3,95	1,49	3,83	3,64	5,46	2,39	
<b>IC</b>	1,89 – 8,44	0,7 – 3,16	1,89 – 7,7	1,67 – 7,8	2,47 – 12,1	0,87 – 6,56	
<b>pC</b>	0.0006	5.0656	0.0021	0.0169	0,1092	1,235	

N= numero de pacientes, FA = frecuencia alélica, OR = Odds Ratio, IC = intervalo de confianza del 95%, pC= valor de p con corrección de Bonferroni, AxSpA = Espondiloartritis con compromiso axial, pSpA = Espondiloartritis con compromiso periférico, AS = Espondilitis Anquilosante, uSpA = Espondiloartritis indiferenciada, ReA = Artritis Reactiva

Como es de esperar el alelo con mayor fuerza de asociación en toda la población de pacientes como en los diferentes subgrupos estudiados fue el HLA-B27. Su mayor presentación correspondió a los pacientes con AS Le siguió en frecuencia el HLA-B15 el cual predominó en los paciente con uSpA. El alelo de DR más frecuente en la población de pacientes fue DRβ1-\*01 el cual presentó la más fuerte asociación en los enfermos con AS, seguido por el DRβ1-\*04. Ningún alelo del A mostro asociación con la enfermedad. La fuerza de asociación de los diferentes alelos se muestra en la tabla 3

Al analizar la fuerza de asociación del HLA-B15 de manera independiente de aquellos pacientes B27+, su fuerza de asociación se incremento de manera global pero más aun en los pacientes con uSpA. Tabla 4.

**TABLA 4. ANALISIS DE HLA B15**

B15	OR	IC	P	CORRECCION	
<b>SpA</b>	23,58	5,33	144,83	<0,0001	<0,0001
<b>EA</b>	13,16	2,8	85,05	<0,0001	<0,0001
<b>EASI</b>	20,85	4,42	134,96	<0,0001	<0,0001
<b>ARE</b>	10,14	1,71	77,28	0,00109	0,0295
<b>axSpA</b>	32,38	7,5	139,1	<0,0001	<0,0001
<b>pSpA</b>	30,33	7,07	130,1	<0,0001	<0,0001

OR = Odds Ratio, IC = intervalo de confianza del 95%, pC= valor de p con corrección de Bonferroni, AxSpA = Espondiloartritis con compromiso axial, pSpA = Espondiloartritis con compromiso periférico, AS = Espondilitis Anquilosante, uSpA = Espondiloartritis indiferenciada, ReA = Artritis Reactiva

## DISCUSION

Nuestro estudio consideró una población importante de enfermos con SpA perteneciente a una cohorte de seguimiento de un Hospital de referencia en Colombia. A los pacientes se les hace seguimiento por un grupo de expertos de acuerdo a las recomendaciones de ASAS

El hallazgo más significativo de este estudio corresponde a la asociación encontrada entre el HLA-B15 con todos las formas de SpA. El 23,3% de los enfermos fueron positivos para

este alelo mientras, solo estuvo presente en el 1.2% de la población control. El B15 es un alelo muy poco frecuente en la población colombiana como ha sido reportado previamente en estudio de tipificación en población sana. (23)

Estudios previos han reportado los mismos hallazgos a los encontrados en el nuestro. Vargas-Alarcón en México describió una fuerte asociación de este alelo con SpA, Fueron estudiados un total de 178 pacientes: 64 AS, 83 uSpA y 25 ReA. El HLA-B15 estuvo presente en 41 (23,8%) del total de enfermos y 12 (12,6%) de los controles. Este alelo fue más frecuentemente encontrado en los pacientes con uSpA 25/83 (30,2%), el OR de toda la población con SpA fue 2,04 y de 2,75 en pacientes con uSpA. La presencia del HLA-B15 predominó en pacientes con formas de inicio más tardía, más leve y con mejor pronóstico que los pacientes con HLA-B27<sub>(16)</sub>. Aunque este análisis no fue hecho en el presente estudio, si fue evidente la relación que presento este alelo con las formas periféricas de SpA, tradicionalmente asociadas con una enfermedad más leve y de mejor pronóstico.<sub>(24)</sub>

Hallazgos previos similares fueron hechos por Mielants en población de Bélgica en 1995, en el seguimiento de un grupo pacientes con diagnóstico de SpA y HLA-B27 negativos, fueron asociados con la presencia de HLA-B15. La mayoría de estos pacientes correspondían a uSpA y se encontraban en remisión de los síntomas en el momento de la segunda evaluación<sub>(24)</sub> En este grupo de pacientes aquellos HLA-B27+ tuvieron un curso más severo de la enfermedad, contrario a los pacientes B15, lo cual está en el mismo sentido de lo descrito por Vargas Alarcón. <sub>(16)</sub>

Estudios más recientes hechos en población del norte de África (Túnez) encontraron asociación del HLA-B15 con formas indiferenciadas de Oligoartritis y ReA. De un total de 28 pacientes, 14,3% fueron positivos para el B15, mientras que solo se encontró en 2% de los controles La fuerza de asociación de este alelo con la enfermedad fue de OR 8,2.<sub>(18)</sub>

Los resultados obtenidos reafirman el papel que juega el HLA-B27 en la asociación de la enfermedad en una población mestiza colombiana. Entendiendo como mestizos aquellos individuos nacidos en Colombia, producto de la mezcla de los habitantes autóctonos de la región, con caucásicos (principalmente españoles) y negros venidos de África durante los siglos XVI y XVII. La fuerte asociación de la AS y el HLA-B27 ha sido previamente reportada en porcentajes que varían entre el 68.6 % al 77.6%.<sup>(25-28)</sup> En el presente estudio su presencia en la población normal correspondió al 4.1%. Previamente ha sido reportado en esta misma población la asociación con este gen y con el subtipo B\*2705.<sup>(29)</sup>

Contrario a lo descrito previamente en otras poblaciones, los antígenos del grupo HLA-B agrupados con el nombre de CREG-B7 (Cross Reactive Group) diferentes al B27: B7, B40, B22 no tuvieron asociación en el presente estudio<sup>(30)</sup>. De la misma manera el B14 no fue asociado.<sup>(31)</sup>

Cuando se analizó la clase II se encontró que 62 (32,8%) de 189 pacientes eran HLA-DRb1\*01 mientras los controles solo el 11%, la fuerza de asociación de este alelo para el total de los paciente fue de 7,02. IC: 95%: 2,6-20,8. Estuvo más presente en los pacientes con AS 27 de 87 (31%) dato que concuerda con lo reportado en la literatura en población mexicana, en dicho estudio se compararon pacientes con población control no relacionada familiarmente, el HLA DRB\*01 estuvo presente en el 49% de las forma de comienzo juvenil (<16años) y del 55% de las uSpA, en relación con el 24.5% de los controles y del 11% en aquellos individuos HLA-B27 positivos, lo que sugiere una posible asociación de este alelo en la génesis de las SpA<sup>(61)</sup>.<sup>(16, 32)</sup>

La molécula HLA-DR1 fue implicada en forma independiente en relación con la predisposición de desarrollar SpA, con los resultados obtenidos del estudio de 363 pacientes ingleses con diagnóstico de AS Al ser comparado con población sana se obtuvo un OR de 1.4 (IC95%: 1.1- 1.8 con P=0.02). Esta asociación fue independiente de la presencia del HLA-B27 con RR de 2.7 en formas homocigotas comparado con 2.1 para

formas heterocigotos. Para el alelo DR, se realizó los polimorfismos de la cadena  $\beta 1$ , los de mayor frecuencia fueron los alelos DR $\beta 1$ \*04 con un 16% en el que se observa que el grupo de uSpA es el de mayor frecuencia, estos datos concuerdan con las poblaciones inglesas, tunesinas y mexicanas (33)

La posibilidad de que la susceptibilidad conferida por el B15 no sea de manera independiente si no que se establezca en presencia de otros genes constituyendo un mecanismo poligénico(34) podría explicar la presencia de otros genes asociados a la enfermedad que están involucrados en los mecanismos de respuesta inflamatoria que se da en esta patología.(35)

En el presente estudio se trató de establecer la relación de la enfermedad con presencia de haplotipos, sin embargo no se encontró ninguno en particular, hallazgos similares han sido reportados recientemente.[73]. Es posible que el tamaño de la muestra sea responsable de la no asociación. Estudios posteriores con mayor número de pacientes podrán esclarecer si existe o no la presencia de un haplotipo en esta enfermedad

## **CONCLUSION.**

El presente estudio confirma la importancia relativa que puede tener el B15 en la susceptibilidad de las SpA, el cual ha traspasado al igual que el B27 barreras geográficas y raciales. La presencia de este gen en formas periféricas y no definidas de la enfermedad obliga a estudiar los mecanismos propios de la asociación ya sea de manera individual o en asociación con otros genes del complejo de HLA o no HLA.

## **REFERENCIAS**

1. Enhrefel M. Spondyloarthropathies. Best Practice & Research Clinical Rheumatology. 2012;26:135 - 45.
2. JD. R. Genetics of spondyloarthritis--beyond the MHC. Nature Reviews Rheumatology. 2012;10(8):296 - 304.
3. Carter N WL, Kennedy LG, Brown MA, Wordsworth BP. Susceptibility to ankylosing spondylitis. Rheumatology. 2000;39:445.
4. MA. B. Breakthroughs in genetic studies of ankylosing spondylitis. Reumatology. 2008;47:132 - 7.

5. JD. R. The genetic basis of spondyloarthritis. . *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70:44-50.
6. Rueda B OG, Raya E, Fernandez-Sueiro JL, Mulero J, Blanco FJ, Vilches C, González-Gay MA, Martin J. The IL23R Arg381Gln non-synonymous polymorphism confers susceptibility to ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 2008;67(10):1451-4.
7. Verjans GM vdLS, van Eys GJ, de Waal LP, Kijlstra A. Restriction fragment length polymorphism of the tumor necrosis factor region in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis & Rheumatism*. 1991;34(4):486 - 9.
8. Khan MA. B7-CREG and ankylosing spondylitis. *Br J Rheumatol*. 1983;22(4):129 - 33.
9. López-Larrea C MM, González S, Fernández-Morera JL, Blanco-Gelaz MA, Martínez-Borra J, López-Vázquez A. Association of ankylosing spondylitis with HLA-B\*1403 in a West African population. *Arthritis & Rheumatism*. 2002;46(11):2968-71.
10. Mielants H VE, Cuvelier C, de Vos M. Ileocolonosopic findings in seronegative spondylarthropathies. *Br J Rheumatol*. 1988;27(2):95-105.
11. Reveille JD. The genetic basis of ankylosing spondylitis. *Current opinion in rheumatology*. 2006;18(4):332-41.
12. Wei JC TW, Lin HS, Tsai CY, Chou CT. HLA-B60 and B61 are strongly associated with ankylosing spondylitis in HLA-B27-negative Taiwan Chinese patients. *rheumatology*. 2004;43(7):839 - 42.
13. Yamaguchi A TN, Mitsui H, Ogawa A. Association of HLA-B39 with HLA-B27 Negative Ankylosing Spondylitis and Pauciarticular Juvenile Arthritis in Japanese Patients. *Arthritis & Rheumatism*. 1995;38(11):1672 -7.
14. Brown MA KL, Darke C, Gibson K, Pile KD, Shatford JL, Taylor A, Calin A, Wordsworth BP. The effect of HLA-DR genes on susceptibility to and severity of ankylosing spondylitis. *Arthritis & Rheumatism*. 1998;41(3):460 - 5.
15. Rantapää Dahlqvist S SH, Bjelle A, Möller E. HLA haplotypes in a family with ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1985;12(3):518-22.
16. Vargas-Alarcón G LJ, Hernández-Pacheco G, Pacheco-Tena C, Castillo E, Cardiel MH, Granados J, Burgos-Vargas R. Effect of HLA-B and HLA-DR genes on susceptibility to and severity of spondyloarthropathies in Mexican patients. *Ann Rheum Dis*. 2002;61(8):4.
17. Londoño J GL, Ramírez L, Santos P, Ávila M, Santos AM, Romero C, Valle R. . Caracterización de las espondiloartropatías y determinación de factores de mal pronóstico en una población de pacientes colombianos. *Rev Col Reumatol*. 2005;12:12.
18. Siala M MN, Fourati H, Gdoura R, Younes M, Kammoun A, Chour I, Meddeb N, Gaddour L, Hakim F. MHC class I and class II genes in Tunisian patients with reactive and undifferentiated arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 2009;27(2):208-13.
19. Rudwaleit M vdHD, Landewé R, Akkoc N, Brandt J, Chou CT, Dougados M, Huang F, Gu J, Kirazli Y. The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general. *Annals of the rheumatic diseases*. 2011;70(1):25-31.
20. Rudwaleit M. New Classification Criteria for Spondyloarthritis. *Int J Adv Rheumatol*. 2010;8(1):1-7.
21. Excoffier L. Arlequin suite ver 3.5 2010.
22. Raymond M RF. Genepop on the Web. 2011.
23. Avila L CA, Franco L, Briceño I, Casas MC, Gomez A. Bajo polimorfismo en el sistema de antígenos de leucocitos humanos en población mestiza colombiana. *Univ Méd Bogotá*. 2010;51(4):359 - 71.
24. Mielants H VE, De Vos M, Cuvelier C, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Elewaut D. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. I. Clinical aspects. *The Journal of rheumatology*. 1995;22(12):2266.
25. Reveille JD. Epidemiology of spondyloarthritis in North America. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2011;341(4):284-92.
26. Burgos-Vargas R P-BI. Epidemiology of spondyloarthritis in México. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2011;341(4):298-300.



27. Valle-Oñate R CL, Romero-Sánchez C, Iglesias-Gamarra A, Caballero-Urbe CV, Santos-Moreno P, Reyes E, Londoño J. Epidemiology of spondyloarthritis in Colombia. *Am J Med Sci* 2011;341(4):293-4.
28. Dougados M BD. Spondyloarthritis. *The Lancet*. 2011;377(9783):2127-37.
29. Martínez B CL, Hernández M, Valle R, Avila M, Iglesias Gamarra A. HLA-B27 subtypes in patients with ankylosing spondylitis (As) in Colombia. *Rev Invest Clin*. 1999;51(4):221 - 6.
30. Reveille J. Major histocompatibility genes and ankylosing spondylitis. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*. 2006;20:9.
31. López-Larrea C MM, González S, Fernández-Morera JL, Blanco-Gelaz MA, Martínez-Borra J, López-Vázquez A. Association of ankylosing spondylitis with HLA-B\*1403 in a West African population. *Arth Rheumatism*. 2002;46(11):2968-71.
32. Silva-Ramírez B V-AG, Granados J, Burgos-Vargas R. HLA antigens and juvenile onset spondyloarthritis: negative association with non-B27 alleles. *Clin Exp Rheumatol*. 2005;23(5):721-3.
33. Said-Nahal R M-RC, Gautreau C, Tamouza R, Borot N, Porcher R, Charron D, Dougados M, Breban M. The role of HLA genes in familial spondyloarthropathy: a comprehensive study of 70 multiplex families. *Ann Rheum Dis*. 2002;61(3).
34. Díaz-Peña R L-VA, López-Larrea C. Old and new HLA associations with ankylosin spondylitis. *Tissue antigens*. 2012;80:205-13.
35. Reveille JD. Genetics of spondyloarthritis- beyond the MHC. *Nature Reviews Rheumatology*. 2012;8:296 - 304.

## **CAPITULO 3. CARACTERISTICAS CLINICAS**

### **EL EFECTO DEL GEN HLA-B15 EN LA SUSCEPTIBILIDAD Y PRESENTACIÓN CLÍNICA DE LAS ESPONDILOARTRITIS EN UN GRUPO DE PACIENTES COLOMBIANOS**

#### **INTRODUCCION**

Las Espondiloartritis (SpA) son un grupo de enfermedades inflamatorias crónicas que comparten manifestaciones clínicas, radiológicas, asociación con el HLAB-27 y una tendencia familiar<sup>(1)</sup>. Dentro de este grupo están: la Espondilitis Anquilosante (AS), Artritis Reactiva (ReA), Espondiloartropatía Psoriásica (PsA), formas asociadas a enfermedad inflamatoria intestinal y las Espondiloartritis indiferenciadas(USpA)<sup>(2)</sup>. Su prevalencia es de 0.1 al 0.8% según la región geográfica estudiada<sup>(3)</sup>. Afecta predominantemente a hombres menores de 45 años y clínicamente se caracteriza por compromiso del esqueleto axial, articular periférico, entesitis y manifestaciones extra articulares en piel, mucosas y ojos<sup>(4)</sup>.

Tecnologías de micro arreglos de genotipo han logrado explicar el rango de asociaciones encontradas en las enfermedades poligénicas autoinmunes como la espondiloartritis, en donde varios factores de riesgo genético han sido descritos; se conocen más de 10 locus genéticos implicados en la susceptibilidad a la SpA. La genotipificación de SNPs y otras secuenciaciones del genoma (GWAS) han mejorado el entendimiento de la patogenia de la enfermedad sugiriendo que las variantes genéticas podrían estar asociadas con las diferentes manifestaciones clínicas y evolución de la enfermedad<sup>(5)</sup>.

El HLA-B27 ha sido descrito como factor de riesgo para SpA antes de la introducción de técnicas moleculares, sin embargo aunque este gen tiene un rol central en la patogénesis de la SpA, no genera la misma susceptibilidad en todos los grupos étnicos<sup>(6)</sup>. La carga genética del HLA-B27 en la etiología de la enfermedad ha sido estimada entre 6.9% y 28%<sup>(7, 8)</sup>, sugiriendo que factores ambientales y otros genes no HLA-B27, dentro o fuera del

Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH), pudieran participar en la susceptibilidad a la enfermedad, tal es el caso de antígenos intracelulares como el ERAP1 (aminopeptidasa del retículo endoplasmico), citoquinas en la vía de IL-17-IL-23, genes de la vía NF-KB, citoquinas del sistema inmune innato, otros alelos B del CMH clase I: B40<sub>(9)</sub>, B39<sub>(10)</sub>, B14<sub>(11)</sub>, B15<sub>(12)</sub>, y genes del CMH clase II, como el DRB1-01<sub>(13)</sub>.

El diagnóstico de la enfermedad se basa en hallazgos clínicos, radiológicos y de laboratorio; actualmente se propone para la clasificación, los criterios European League Against Rheumatism (EULAR) ASAS (The Assessment in Ankylosing Spondylitis) cuya sensibilidad y especificidad es de 79.5% y 83.3%. Estos consideran dos patrones de enfermedad: axial<sub>(13)</sub> y periférico<sub>(14)</sub>, con los cuales se pretende recolectar mayor información sobre el estado clínico de los pacientes con SpA.

Los criterios axiales ASAS (axSpA), tienen como componente principal la presencia de HLA-B27<sub>(15)</sub>, por su alta sensibilidad, especificidad y validez para las SpA axiales; sin embargo, este parece no tener el mismo comportamiento en los criterios periféricos donde también está considerado. En las uSpA tradicionalmente asociadas a compromiso periférico, el HLA-B27 solo está presente en el 40% de los enfermos<sub>(16)</sub>. Otros genes mencionados previamente podrían estar implicados en estas formas de presentación de la enfermedad.

Estudios previos han reportado asociación del HLA-B15 con las SpA en población Europea (Belga)<sub>(17)</sub> <sub>(18)</sub>, norte de Africana (Túnez)<sub>(19)</sub> y Latinoamericana (México) <sub>(20)</sub>, principalmente en formas relacionadas con enfermedad inflamatoria intestinal, ReA y USpA, donde predomina el compromiso articular periférico. Lo anterior sugiere que este alelo podría jugar un papel importante en la susceptibilidad de las SpA de predominio periférico.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del alelo HLA-B15 en la susceptibilidad y presentación clínica de las SpA en un grupo de pacientes colombianos.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Selección de la muestra:**

Se seleccionaron 177 individuos de un total de 574 pacientes, con diagnóstico establecido de SpA de acuerdo a los criterios del European Spondyloarthritis Study Group ; evaluados en el Hospital Militar Central en Bogotá entre enero del 2005 y Diciembre del 2011, los cuales tenían tipificación de HLA (ABDR). Todos los pacientes fueron evaluados por un Reumatólogo experto en una clínica ambulatoria de pacientes con SpA.

### **Recolección de datos y toma de imágenes diagnosticas:**

Los datos demográficos, clínicos, actividad de la enfermedad (BASDAI <sup>(21)</sup> ), estado funcional (BASFI <sup>(22)</sup>), dolor lumbar, número de articulaciones inflamadas y dolorosas; fueron recolectados Para la evaluación del número de entesis comprometidas, se aplicó el índice de Mander<sup>(23)</sup>.

A los pacientes se les tomo radiografía antero posterior de pelvis, Resonancia Nuclear Magnética (RNM) de articulaciones sacroilíacas con secuencias T1 y técnicas de supresión grasa; los cuales fueron evaluados por un observador ciego (Radiólogo experto en sistema osteomuscular). La interpretación de las radiografías se realizó de acuerdo con las recomendaciones de la Conferencia de Nueva York para estudios en Poblaciones<sup>(24)</sup> y la RNM de acuerdo a la presencia de cambios agudos y crónicos.<sup>(25)</sup>

### **Toma de muestra y metodología para el procesamiento de las mismas:**

Tipificación HLA y marcadores séricos de inflamación:

Para la tipificación de HLA se realizo la extracción de DNA a partir de las muestras de sangre periférica tomada a cada paciente y control , mediante protocolos estandarizados utilizando la metodología del estuche Wizard® Genomic DNA Purification Kit Protocol de la casa comercial Promega ®, ajustándose la concentración de DNA a  $80 \pm 20$  ug/ul para

posterior realización de la tipificación de los alelos A, B y DR cadena  $\beta$ 1 mediante el estuche de Biotest® HLA ABDR-SSP que utiliza la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) mediante la secuencia de primers específica (SSP) Se verificó el producto de reacción mediante una electroforesis en geles de agarosa al 2%, visualizando las bandas en un fotodocumentador de luz ultravioleta para ser interpretado posteriormente mediante el programa de BioRad®.HLA SSP Typing Software V 1.2.0.0 Bio-Rad Medical Diagnostics GmbH

A todos los pacientes se les reviso los resultados de los marcadores séricos de inflamación: Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) y Proteína C Reactiva (PCR) ultrasensible.

**Grupo control:**

Se tomaron como individuos para la población control, 100 donantes del programa de trasplante de órganos del Hospital Militar, que tenían las mismas características socio demográficas de los pacientes con SpA seleccionados.

La determinación del estado de equilibrio de ligamiento genético de la población estudiada con respecto a los controles, se comprobó por el método Hardy-Weinberg; para lo cual se utilizó el programa estadístico Arlequin® versión 3.5<sub>(26)</sub>. Para establecer la diferencia en la frecuencia de los alelos entre la población de pacientes se utilizó el programa Genepop versión del 23 de abril de 2011<sub>(27)</sub> y para la población control se compararon las frecuencias alélicas y se realizó para la asociación la prueba de Chi cuadrado.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico se realizó a partir de un paquete SPSS 17.0 windows (SPSS Inc., USA). Para la presentación y análisis de variables categóricas se usó distribuciones de frecuencia, porcentajes y tablas de contingencia. Las comparaciones estadísticas se realizaron por Chi Cuadrado. Para las variables numéricas se usaron medidas de tendencia central y de dispersión. De acuerdo a la distribución de normalidad de los datos se utilizaron para la comparación de los resultados pruebas paramétricas (t- Student) o no paramétricas (Test de Wilcoxon). Se estableció un valor de p de significación estadística menor o igual a 0.05 e intervalos de confianza del 95%.

### **Aspectos éticos:**

El presente estudio fue aprobado por los Comités de Ética del Hospital Militar Central, Universidad de Los Andes y la Universidad de La Sabana.

## **RESULTADOS**

### **Características demográficas**

Los datos demográficos y la información clínica relacionada con la presentación de las SpA y sus diferentes subtipos, en relación con la presencia del HLA B27, HLA B15 y otros alelos de B (no B27 - no B15) son mostrados en la Tabla 1.

**Tabla 1. Características demográficas de los pacientes con SpA**

VARIABLE	HLA B 15			HLA B 27			HLA B 27/ HLA B 15		
	B15 34	OTROS B 74	P	B27 69	OTROS B 108	P	B27 69	B15 34	P
Edad de inicio	28,4 ± 10,5	30,9 ± 10,6	0,203	28,2 ± 10,5	30,9 ± 10,6	<b>0,043</b>	27.7±10.6	28.15±9.5	0.56
Edad Actual	34,9 ± 11,1	38,2 ± 13,7	0,159	35,9 ± 13,6	38,2 ± 13,7	0,168	35.8±13.6	35.7±10.0	0.961
Tiempo de Evolución M(RIQ)	4.9 (1-12)	7,1 ± 8,8	0,579	7,7 ± 10.0	7,1 ± 8,9	0,584	3.6(0.9-12.5)	3.95(2.0-12.07)	0.42
Sexo H/M(%) Relación H:M	51.2%/49% 1.04:1	70/51 1.38:1	0,448	77.4%/22.5% 3,4:1	43.5%/32% 1,4:1	<b>0,000</b>	78.2%/21.7% 3.6:1	44.1%/55.8% 0.78:1	<b>0.000</b>
Espondilitis Anquilosante	41,9%	50,4%	0,471	60,0%	48,10%	<b>0,011</b>	59.4%	38.2%	<b>0.017</b>
USpA	44,2%	33,6%		20,7%	36,50%		20.3%	50%	
Artritis Reactiva	14%	15,9%		19,3%	15,40%		20.3%	11.8%	
Criterios ASAS Axiales(%)	84%	76.3%	0,419	100%	76.3%/24%	<b>0,000</b>	100%	81%	<b>0.000</b>
Criterios ASAS Periféricos(%)	100%	88.4%	<b>0,021</b>	84.5%	88.4%	0,356	85%	100%	0.067

### **Asociación de HLA B con la enfermedad**

La fuerza de asociación de los alelos HLA-B27y B15 con los diferentes subtipos de enfermedad y formas de presentación son mostrados en la Tabla 2.

**Tabla 2. HLA-B y enfermedad**

Enfermedad	HLA- B15 OR (IC)	HLA-B27 OR (IC)
SpA	14,87* (3,4 – 90,8)	9,13* (3,8 – 22,8)
AS	13,16* (2,8 – 85,1)	15,7* (6,1 – 41,8)
uSpA	20,85 * (4,42 – 134,9)	13,8 (1,4 – 11,2)
ReA	10,14 (1,71 – 77,28)	11,2 * (2,7 – 35,3)
axSpA	8,22* (1,89 -35,59)	9,8* 4,29 – 22,47)
pSpA	15,45* (3,64 – 65,44)	6,99* (3,05 – 16,05)

\* p< 0,05

### **Estado actual de la enfermedad**

Las características clínicas más relevantes y los hallazgos imagenológicos de los pacientes HLA-B15 y HLA-B27, se describen en la tabla 3.

**Tabla 3. Estado actual de la enfermedad**

VARIABLE	HLA B15	HLA B27	p
N. Articulaciones inflamadas	5,3 ± 5,1	2,33 ± 1,8	<b>0,004</b>
Entesis dolorosas	6,00 ± 4,4	4,3 ± 3,3	<b>0,014</b>
Entesopatía axial	2,0 ± 1,9	2,08 ± 2,3	0,100
Entesopatía periférica	3,4 ± 2,9	2,5 ± 2,3	<b>0,050*</b>
Dolor de Columna	4,7 ± 2,9	6,4 ± 2,6	<b>0,001*</b>
Occipucio pared	0,6 ± 2,8	1,2 ± 3,1	0,280
Expansibilidad Torácica	4,0 ± 1,3	3,8 ± 1,52	0,600
Test Schober modificado	4,2 ± 1,3	4,0 ± 1,4	0,572
Rx Sacroiliitis ≥ 2	56,3%	74,7%	<b>0,043*</b>
Porcentaje (%)			
RNM cambios agudos	30,8%	45%	0,284
Porcentaje(%)			

**\*p<0,05**

### **Actividad de la enfermedad**

Los índices de actividad (BASDAI), funcionalidad (BASFI), los reactantes de fase aguda, Evaluación visual análoga (EVA) tanto del paciente como del médico que presentaron los pacientes HLA- B15 y HLA-B27, se describen en la Tabla 4.

**Tabla 4. Actividad de la enfermedad.**

VARIABLE	HLA B15	HLA B27	p
BASDAI	6.2 ± 2,3	4,9 ± 2,5	<b>0,006*</b>
BASFI	5.5 ± 2,4	4,4 ± 2,5	<b>0,024*</b>
EVA paciente	6,7 ± 1,9	6,0 ± 6,0	0,520
EVA Medico	4,9 ± 1,5	4,6 ± 2,1	0,580
PCR M(RIQ)	0.5(0,3-0,8)	0,8(0,2-6,04)	0,164
VSG M(RIQ)	15(10-23,5)	20(7,5-37,5)	0,159

M(RIQ)= rango intercuartil, \* p<0,05



## DISCUSION

Los resultados en nuestro estudio sugieren que además de la fuerte asociación de las SpA con el HLA-B27, otro alelo HLA-B ha sido identificado; un aumento en la prevalencia de HLA-B15 se encontró asociado con las SpA, especialmente en los subtipos clínicos relacionada con el compromiso periférico de la enfermedad en nuestra población.

En los pacientes HLA B15 de la cohorte estudiada, la proporción de hombres fue menor y las formas indiferencias de la enfermedad fueron más frecuentes. Diferente en los pacientes HLA-B27 donde predominó el sexo masculino y las formas axiales asociadas a AS. Los pacientes HLA-B15 fueron similares a los HLA-B27 en cuanto a la edad de inicio y tiempo de evolución, pero no hubo diferencia estadísticamente significativa al compararlos con los otros alelos B diferentes al B27, como si sucedió al comparar los pacientes B27 con otros alelos de B No B27-B15. Seguramente relacionado con el tamaño de la muestra de los pacientes incluidos en el estudio. Sugiriendo una similitud de estos hallazgos entre los pacientes B27 y B15.

Desde el punto de vista clínico, los pacientes B15 se caracterizaron por presentar mayor número de articulaciones inflamadas y compromiso de entesis periféricas. No hubo diferencia en las evaluaciones relacionadas con la movilidad de la columna toracolumbar cuando se compararon con los B27. Los pacientes B15 a diferencia de los B27, presentaron menor porcentaje de pacientes con compromiso crónico en radiografía de pelvis, cambios agudos en RNM y menos dolor espinal con diferencias estadísticamente significativas.

El género masculino, los síntomas axiales, la edad de inicio más temprano (<20 años) y la presencia del HLA-B27, han sido asociados en investigaciones previas a mal pronóstico<sup>(28)</sup>. En este estudio, los pacientes B15 parecen representar un fenotipo de enfermedad

menos severa, dada la menor proporción de hombres comprometidos y el predominio de manifestaciones periféricas.

En cuanto a los índices de actividad (BASDAI) y funcionalidad (BASFI), se encontró que los pacientes B15, presentaron mayores índices con respecto a los B27, mientras que los reactantes de fase aguda fueron similares en ambos grupos. Esto podría ser explicado por el impacto que representa en la funcionabilidad y en la actividad de la enfermedad el compromiso inflamatorio de las articulaciones y las entesis de los miembros inferiores.

El HLA B27 ha sido presentado desde hace 40 años como factor predisponente para desarrollar SpA principalmente AS <sup>(29)</sup>; en caucásicos el 80-85% de los pacientes con SpA son HLA-B27, sin embargo solo el 8% de la población HLA-B27(+) desarrollan enfermedad, lo que sugiere que a pesar de su reconocido rol en la patogénesis de la SpA, no es suficiente para explicar completamente la susceptibilidad y el desarrollo de la enfermedad. En poblaciones diferentes la presencia del B27 está asociado con menor fuerza, siendo descrito entre un 40 y 60% de los pacientes con SpA. Esto es válido para poblaciones latinoamericanas incluyendo la nuestra.

En países anglosajones la AS es el subtipo más común de SpA, en nuestro medio, se ha reportado representa aproximadamente el 40% de todas las SpA<sup>(30)</sup>. En Latinoamérica predominan las formas indiferenciadas de la enfermedad (uSpA), en las cuales probablemente son representativos otros genes HLA<sup>(31, 32)</sup>. Recientemente el grupo ASAS planteó criterios clasificatorios que permiten abarcar las formas severas y tempranas de la enfermedad, en patrón axial y periférico; en el presente estudio, el 100% de los pacientes HLA-B15 cumplieron criterios periféricos ASAS y el 100% de los HLA-B27 cumplieron los nuevos criterios axiales de ASAS.

Existen reportes en diferentes poblaciones de la asociación entre el B15 y enfermedad. Un estudio en población mexicana describió además de la fuerte asociación con el HLA-B27,

una alta prevalencia de HLA-B15 en pacientes con SpA ( $p=0.034$ ,  $pC=NS$ ,  $OR=2.04$ ), la fuerza de asociación alélica varió entre los subtipos de SpA; un incremento moderado del B15 fue encontrado en las formas indiferenciadas de la enfermedad pero no en AS ( $p=0.004$ ,  $pC=NS$ ,  $OR=2.75$ ); el HLA-B27 predominó, como se ha descrito en otras series, en AS pero tuvo una débil asociación con uSpA (20).

En Bélgica, un estudio prospectivo a 2 fases realizado por Mielans y cols(33), tomaron pacientes con diferentes subtipos de SpA a quienes se les realizó ileocolonoscopia y seguimiento clínico, para clínico e imagenológico, se encontró diferencias estadísticas en la prevalencia de antígenos HLA comparados con controles sanos. La prevalencia del HLA-B15 fue alta en pacientes con USpA (16/51 32% ) y cuando se comparó con pacientes en remisión clínica, el B15 fue más frecuente ( $\chi^2=3$   $p<0.05$ ), mientras que el B27 fue más prevalente en el grupo de AS (10/12 83%) y en aquellos con persistencia la activa de la enfermedad ( $\chi^2=7.6$   $p<0.01$ ).

En este mismo estudio, el HLA-B15 también se encontró en el 25% de los pacientes HLA-B27 negativos con AS ( $\chi^2=5.5$   $p<0.05$ ) y fue ausente en pacientes con AS axial HLA-B27. Todos los pacientes con ReA mostraron incremento estadísticamente significativo de HLA-B15 (34%  $\chi^2=73$   $p<0.0005$ ) y de HLA-B27 (48%  $\chi^2=82$   $p<0.0005$ ). La prevalencia de B15 en pacientes con ReA fue significativamente más alta que en AS ( $\chi^2=9.45$   $p<0.01$ ), y estuvo presente en pacientes con lesiones inflamatorias intestinales crónicas similares a enfermedad de Crohn (27.5%  $\chi^2=17$   $p<0.01$ ); lo cual sugiere que el alelo B15 en pacientes con lesiones inflamatorias intestinales crónicas, podría predisponer al desarrollo de artritis periféricas.

En algunas regiones de África (Tunes), el HLA-B 15 (19, 34) también se ha relacionado a uSpA ( $p=0.002$ ,  $OR=18.40$ ) y ReA ( $p=0.027$ ;  $OR=8.20$ ) (35). En nuestro estudio, la frecuencia del HLA-B27 en las formas indiferenciadas de la enfermedad, estuvo por debajo del 30%, mientras que el B15 se encontró en el 50% de los pacientes con USpA. Esta presentación

similar en población latinoamericana, europea de Bélgica y africana de Túnez, podrían ser el resultado del efecto que ejerce la migración poblacional. Los datos muestran que el B15 se encuentra en diferentes grupos étnicos, atravesando barreras geográficas lo cual podría dar validez a su asociación con enfermedad.

Otras entidades inflamatorias óseas locales también han demostrado asociación con el alelo B15; un metanálisis en población caucásica de pacientes con periodontitis, mostró que los pacientes con periodontitis aguda presentaron significativa asociación con el HLA-B15 (OR: 1.90 (1.15–3.16),  $p < 0.01$ ). Se han descrito modelos de asociación entre enfermedad periodontal y el inicio de enfermedades inflamatorias sistémicas de origen inmunológico como la Artritis Reumatoide, lo que sugiere que el B15 podría estar asociado con estados inflamatorios agudos y crónicos, tanto en procesos de compromiso óseo local como en osteomuscular periférico<sup>(36)</sup>.

El HLA-B15 podría ser considerado como otro factor genético asociado a la enfermedad, ya que es el más polimórfico de los genes HLA Clase I <sup>(37)</sup>; dicho polimorfismo natural, predispone a la pérdida de interacción con complejos de ensamblaje en el retículo endoplásmico,<sup>(38)</sup> convirtiéndose en una estructura más inestable, pudiendo incrementar el riesgo de desarrollar desordenes genéticos y enfermedades autoinmunes. Recientemente se menciona que el B15, B14, B38, B39 y B73 poseen un residuo de Cisteína en la posición 67 del bolsillo B en la cadena alfa del HLA Clase I, similar a la estructura del B27; lo cual predispone a la formación de homodímeros que activan la respuesta inmune innata para la producción de citoquinas que han sido implicadas en la inflamación crónica evidenciada en la patogenia de las SpA <sup>(39)</sup>. Por lo tanto, esta propiedad biológica del HLA-B15 probablemente confiere predisposición a desarrollar enfermedad.

En conclusión, en nuestra cohorte, se evidencia que el HLA-B15 representa un patrón de presentación de tipo periférico independiente del género y la edad, con una importante actividad inflamatoria articular y entesitis periférica, pero menor severidad desde el punto

de vista del compromiso toraco lumbar; por lo tanto el HLA-B15 podría implementarse como un marcador de enfermedad en nuestra población especialmente en las SpA con patrón periférico y HLA-B27. Este alelo podría equipararse como herramienta diagnóstica con la enfermedad axial, en donde el B27 marca una enfermedad en hombres menores de 45 años, más severa por compromiso funcional del esqueleto axial.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Khan MA. Update on spondyloarthropathies. *Ann Intern Med.* 2002;136:896-907.
2. Dougados M VdHD. Ankylosing spondylitis: how should the disease be assessed? . *Bailliere's Clin Rheumatol* 2002;16:605-18.
3. Ehrenfeld M. Geoepidemiology: the environment and spondyloarthropathies. *Autoimmunity Reviews.* 2010;9(5):A325-A9.
4. Dougados M HM. the concept of spondyloarthropaties important? . *Bailliere's Clin Rheumatol* 2002;16:495-505.
5. Diaz-Pena R, Lopez-Vazquez A, Lopez-Larrea C. Old and new HLA associations with ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens.* Sep;80(3):205-13.
6. Gonzalez-Roces S AM, Gonzalez S et al. HLA B27 polymorphism and worldwide susceptibility to ankylosing spondylitis. *Tissue Antigens* 1997;49:116-23.
7. JD R. Genetics of spondyloarthritis—beyond the MHC. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8:296-304.
8. Yamaguchi A TN, Mitsui H, et al. Association of HLA-B39 with HLA-B27-negative ankylosing spondylitis and pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis in Japanese patients. Evidence for a role of the peptide-anchoring B pocket. *Arthritis Rheum* 1995;38(38):1672–7.
9. Robinson W.P. vdLS, Khan M.A. HLA-Bw60 increases susceptibility to ankylosing spondylitis in HLA-B27+ patients. *Arthritis Rheum* 1989;32:1135-41.
10. Yamaguchi A TN, Mitsui H, et al. Association of HLA-B39 with HLA-B27-negative ankylosing spondylitis and pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis in Japanese patients. Evidence for a role of the peptide-anchoring B pocket. *Arthritis Rheum* 1995;38:1672–7.
11. Díaz-Peña R B-GM, Njobvu P, et al. Influence of HLA-B\*5703 and HLAB\*1403 on susceptibility to spondyloarthropathies in the Zambian population. *J Rheumatol* 2008;35:2236 – 40.
12. Wagener P ZH, Eckert G, Deicher H. Increased frequency of HLA-Bw62 and Bw35 CREG antigens HLA-B27 negative ankylosing spondylitis. *Z Rheumatol* 1984;43:253–7.
13. Rudwaleit M LR, Van der Heijde D, Listing J, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Collantes-Esteve E, Davis J,Dijkmans B. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part I): classification of paper patients by expert opinion including uncertainty appraisal. *Annals of the rheumatic diseases.* 2009;68(6):770-6.
14. Rudwaleit M vdHD, Landewé R, Akkoc N, Brandt J, Chou CT, Dougados M, Huang F, Gu J, Kirazli Y. Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general. *Annals of the rheumatic diseases.* 2011;70(1):25-31.
15. Rudwaleit M ea. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *Ann Rheum Dis* 2009;68(777–783).

16. Valle-Oñate R ea. Epidemiology of spondyloarthritis in Colombia. *Am J Med Sci.* 2011;341(4):293'4.
17. Mielants M VE, Joos R,Cuvelier C, De Vos M. HLA antigens in Seronegative Spondyloarthropathies. Reactive arthritis and arthritis in ankylosing Spondylitis. Relation to gut Inflammation. *J Rheumatol* 1987;11:466-71
18. Mielants M VE, De vos M,Cuvelier C, Goemaere S, et al. The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. I. Clinical aspects. *J Rheumatol.* 1995;22:2266-72
19. Siala M, et al. MHC class I and class II genes in Tunisian patients with reactive and undifferentiated arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2009;27(2):208-13.
20. G Vargas-Alarcón JDL, G Hernández-Pacheco, C Pacheco-Tena, E Castillo, M H Cardiel, J Granados, R Burgos-Vargas. Effect of HLA-B and HLA-DR genes on susceptibility to and severity of spondyloarthropathies in Mexican patients. *Ann Rheum Dis* 2002;61:714–7.
21. Garrett SM JT, Kennedy LG, Whitelock H, Gaisford P, Calin A. A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index. *J Rheumatol* 1994;21:2286-91.
22. Calin A GS, Withelock H, Kennedy LG, O’Hea J, Mallorie P, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. *J Rheumatol* 1994;21:2281–5.
23. Mander M SJ, McLellan A,et al. Studies with an entheses index as a method of clinical assessment in ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases.* 1987;46(3):197-202.
24. Bennett P BT. Population studies of the rheumatic diseases. Amsterdam, The Netherlands. Excerpta Medica Foundation. 1968:456–7.
25. Rudwaleit M, Jurik AG, Hermann KG, Landewe R, van der Heijde D, Baraliakos X, et al. Defining active sacroiliitis on magnetic resonance imaging (MRI) for classification of axial spondyloarthritis: a consensual approach by the ASAS/OMERACT MRI group. *Ann Rheum Dis.* 2009 Oct;68(10):1520-7.
26. Excoffier L. Arlequin suite ver 3.5 2010.
27. Raymond M RF. Genepop on the Web. 2011.
28. Burgos-Vargas R, et al. Genuine ankylosing spondylitis in children: a case-control study of patients with early definite disease according to adult onset criteria. *J Rheumatol.* 1996;23(12):2140-7.
29. JD R. The genetic basis of spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2011;70(1):i44–i50.
30. Londoño J GL, Ramírez A, Santos P, Ávila LM; Santos AM, Romero C, Valle R. Caracterización de las Espondiloartropatías y determinación de factores de mal pronóstico en una población de pacientes colombianos. *Revista Colombiana de Reumatología.* 2005;12(3):195-207.
31. Londoño J VRVP, Avila M, Iglesias A, Cuellar ML, Espinosa L. Outcome of patients with undifferentiated seronegative spondyloarthropathy. *Arthritis and Rheumatism.* 1997;40(1):270.
32. Sampaio-Barros PD. Undifferentiated Spondyloarthritis: A Longterm Followup. *J Rheumatol* 2010;37(6):1195-9.
33. Mielans H ea. HLA antigens in seronegative Spondyloarthropathies. Reactive arthritis and arthritis in ankylosing spondylitis: Relation to gut inflammation. *Journal of Rheumatology* 1987;14(3):466-71.
34. Silva-Ramirez B, et al. HLA antigens and juvenile onset spondyloarthritides: negative association with non-B27 alleles. *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23(5):721-3.
35. Vargas-Alarcon G, et al. Effect of HLA-B and HLA-DR genes on susceptibility to and severity of spondyloarthropathies in Mexican patients. *Ann Rheum Dis.* 2002;61(8):714-7.
36. Stein JM MH, Smeets R, Lampert F, Reichert S. Human leukocyte antigen polymorphism in chronic and aggressive periodontitis among Caucasians: a meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2008;35(3):183-93.
37. Martínez-Laso J. ea. Polymorphism of the HLA-B\*15 group of alleles is generated following 5 lineages of evolution. *Human Immunology* 2011;72:412–21.
38. Heth R. ea. HLA-B polymorphism affects interactions with multiple endoplasmic reticulum proteins. *Eur J Immunol.* 2000;30:3021–8.
39. McHugh K BP. The link between HLA-B27 and SpA—new ideas on an old problem. *Rheumatology.* 2012;51:1529-39.



## **CAPITULO 4. PAPEL DEL B15 EN LAS ESPONDILOARTRITIS**

### **NUEVOS ASPECTOS GENETICOS DEL HLA-B EN LAS ESPONDILOARTRITIS**

#### **ESPONDILOARTRITIS - SpA**

Las Espondiloartritis son un grupo de enfermedades reumáticas crónicas compartiendo características clínicas, radiológicas y genéticas. El Grupo Europeo para el estudio de las Espondiloartritis (European Study Group Espondiloartropatía - ESSG), definió en el año 2005 los criterios de clasificación para los cinco subtipos principales de SpA definidos como Espondilitis Anquilosante (AS), siendo ésta la más estudiada convirtiéndose en el prototipo, Artritis Psoriásica (APs), Artritis Reactiva (ARe), Artritis Asociada con la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (AIBD) y Espondilitis Indiferenciada (EASI).<sup>[1-3]</sup> Desde entonces a este grupo de enfermedades se denominó Espondiloartritis para enfatizar la naturaleza inflamatoria de estas enfermedades.<sup>[4]</sup> Actualmente se está implementando para el diagnóstico y la clasificación los criterios axiales (AxSpA) y periféricos (pSpA) dados por la Sociedad Internacional para la evaluación de las Espondiloartritis (Assessment of SpondyloArthritis international Society - ASAS) en los cuales se concentra en la forma de presentación de la enfermedad <sup>[5, 6]</sup>

Uno de los factores relevantes es el ambiental, evidenciado en la región geográfica donde se presenta la mayor frecuencia del alelo HLA-B27 y la mayor prevalencia de la enfermedad. <sup>[7-9]</sup> En Colombia no hay reporte de la prevalencia, únicamente los datos que se han reportado en la cohorte del Hospital Militar en el cual la mayor frecuencia son las AS con un 43.6%, seguida de las uSpA 29.6%, ReA 5.6%<sup>[10, 11]</sup>, una cohorte en la ciudad de Medellín correspondiente al Hospital Pablo Tobón Uribe en el cual ingresaron 71 pacientes con la siguiente distribución: 31 (43%) AS, 20 (29%) uSpA, 13(18%) PsA, 4 (5%) ReA y 3 (4%) Espondiloartritis asociada a enfermedad inflamatoria intestinal <sup>[12, 13]</sup>. En cuanto a raza la prevalencia de la AS es proporcional a la frecuencia del HLA-B27 en la población estudiada, siendo la raza blanca la de mayor prevalencia y la raza amarilla la de



menor frecuencia. En los afrodescendientes sin importar si es norteamericano o africano, se observa una menor frecuencia de AS y de HLA-B27.<sup>[7]</sup>.

### **GENETICA DE ESPONDILITIS ANQUILOSANTE - AS**

La parte genética es otro de los factores que afecta la prevalencia de las SpA , siendo el complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) Clase I, especialmente el alelo B27, el de mayor asociación con la presencia de la enfermedad. Aunque se describe que el HLA-B27 representa solo el 16 % de riesgo genético a las AS.<sup>[14]</sup> A nivel mundial se estima que la frecuencia del alelo HLA B27 es del 7% en la población en general y se ha reportado que menos del 5% desarrollan Espondilitis Anquilosante (AS), pero se ha evidenciado la presencia de este alelo en los pacientes casi en un 90%, con un rango a nivel mundial de 45 a 90%<sup>[15]</sup>, en Colombia se ha reportado que los pacientes con HLA B27 y SpA son del 39%.<sup>[10]</sup>

Cuando se realizaron los estudios de secuenciación del genoma de los pacientes con AS se evidenció que no solamente los genes del HLA – B se asociaban a la enfermedad sino que existían genes localizados en otros cromosomas 2q, 6p, 10q, 11q, 16q, 17q, 19q<sup>[16, 17]</sup> proponiéndose así algunos genes candidatos que se localizan en estos cromosomas, pero siguen siendo muy controversiales debido a que la presencia de asociación de dichos genes y la AS no es consistente en todas las poblaciones estudiadas, uno de los genes candidatos, la Aminopeptidasa del Retículo Endoplásmico 1(ERAP1) que se ha estudiado en población Asiática y Europea han presentado asociación a las formas de AS.<sup>[18]</sup> Otro de los genes candidatos es el Receptor para Interleucina-23 (IL-23), en el cual en población europea se encuentra asociación pero no en la asiática.<sup>[19]</sup> Dichos genes codifican para proteínas que intervienen en el mecanismo desencadenante de la respuesta inflamatoria crónica que se observa en los pacientes con AS. Adicionalmente en la población Han en China se ha asociado otros genes que codifican proteínas que intervienen en el desarrollo del cartílago y la formación del hueso, estos son EDIL3 (EGF-like repeats and discoidin I-

like domains 3) y HAPLN1 (hyaluronan and proteoglycan link protein 1) localizados en el 5q14.3 y ANO6 (anoctamin 6) en la región 12q15.<sup>[20]</sup>

### **COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD**

El Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), es la región del genoma que codifica para un gran conjunto de genes alineados y continuos, en los humanos se denominan Antígenos de Histocompatibilidad (HLA), localizado en el cromosoma 6 en el brazo corto en la región 6p21.3, ocupan aproximadamente 3 centimorgans, <sup>[21-23]</sup> es una región con gran polimorfismo, contiene más de 200 genes.<sup>[24]</sup> Se encuentra dividido en tres sub-regiones, que se agrupan dependiendo de su estructura y función en Clase I, Clase II y Clase III, su expresión proteica está en la superficie celular de la mayoría de las células nucleadas para la Clase I y en las células presentadoras de antígenos las moléculas de clase II.<sup>[24, 25]</sup>

Los genes del MHC tienen características especiales como son: la herencia codominante lo cual hace que se expresen en la misma célula los dos genes, la presencia de haplotipos debido a la cercanía de sus genes en el cromosoma lo cual hace que se hereden en bloque y el desequilibrio de ligamiento, es decir que ciertos alelos tienen una tendencia a estar juntos en el mismo haplotipo en lugar de separarse al azar, la recombinación entre sus genes es cercano al 3%. Estas características hacen que la presencia de haplotipos en las poblaciones tenga una frecuencia mayor que la esperada debido al azar<sup>[26]</sup>

La caracterización del HLA se ha utilizado principalmente para la selección donante y receptor en los diferentes trasplantes de órganos. Adicionalmente, se utiliza su determinación para la identificación de la susceptibilidad a ciertas enfermedades como es el caso de la AS con el HLA B27<sup>[27]</sup>; en estudios antropológicos permitiendo conocer las migraciones y las características poblacionales<sup>[28]</sup>; para el conocimiento de la respuesta inmunitaria ante los diferentes estímulos<sup>[9]</sup>; entre muchas aplicaciones.<sup>[29, 30]</sup>

## **ASOCIACION DE HLA CLASE I Y ESPONDILOARTRITIS**

Desde hace más de 40 años se conoce que la AS está asociada al alelo HLA-B27, este se ha observado en la mayoría de las poblaciones.<sup>[31]</sup> No todos los subtipos se asocian con SpA, estudios en diferentes poblaciones a nivel mundial indican que los subtipos B\*27:05, B\*27:04, B\*2702 están fuertemente asociados con AS y los B\*27:06 y B\*27:09 se cree que tiene un factor protector en la población<sup>[32]</sup>. El HLA-B\*27:05 es el subtipo más extendido, es el ancestro común y está claramente asociado con AS y las SpA en todo el mundo, excepto por la población de África Occidental, de Senegal y Gambia. <sup>[33]</sup>

Diversos estudios han sugerido que el HLA-B27 constituye una sola parte de todo el riesgo de SpA, menos del 5% de individuos positivos para dicho alelo en la población general padecerían de la enfermedad.<sup>[34]</sup> Otros genes del HLA-B se han asociado a las SpA en diversas poblaciones, entre los más reportados están el HLA-B\*4001 en pacientes con AS en población de Europa y Taiwán. El HLA-B38 y B39 en pacientes con PsA<sup>[35]</sup>. En recientes estudios en el Este de África se ha asociado el HLA-B\*14:03 en susceptibilidad en AS.<sup>[36]</sup> El HLA-B15 se ha asociado a las formas uSpA y ReA en poblaciones de Bélgica<sup>[37]</sup>, tunecina, mexicana<sup>[38]</sup> y colombiana<sup>[39]</sup>, lo cual hace proponer al HLA B15 como otro gen candidato en las SpA.

## **ETIOPATOGENIA DE LAS ESPONDILOARTRITIS**

A pesar de la gran cantidad de investigación que se ha llevado a cabo desde la asociación entre el HLA-B27-AS, sigue existiendo un considerable debate sobre su papel en la patogénesis. Las funciones inmunológicas de HLA-B27 han sido la base de muchas teorías formuladas en los intentos por explicar esta asociación. Estos incluyen aquellos que proponen al B27 a actuar en su capacidad natural como una molécula presentadora de antígeno para el reconocimiento por células T CD8 +, y aquellos que consideran un papel para B27 independiente de su función clásica y en base a sus propiedades atípicas. De dicha asociación se han planteado diferentes hipótesis que explican la etiopatología de la enfermedad.<sup>[33]</sup>

Numerosas investigaciones se han realizado para comprender el papel de la molécula HLA-B27 y la patogénesis de la AS, se sabe que dicha molécula HLA-B27 tiene unas características especiales que se reflejan en las hipótesis propuestas para la patogénesis de la AS. Dentro de las que más se han sustentado son: 1-la teoría del péptido artritogénico<sup>[33]</sup>, 2- la teoría del mal plegamiento de la molécula de B27 y 3-la teoría del la formación de los homodímeros y cadenas libres de B27.<sup>[31]</sup>

En la primera teoría en la cual un péptido bacteriano o viral, podría mostrar mimetismo molecular con la molécula de HLA-B27, algunos LT CD8<sup>+</sup> podrían superar la tolerancia contra ese péptido, induciendo autoinmunidad<sup>[32]</sup>, daño tisular e inflamación.<sup>[33]</sup> El HLA-B27 se distingue por su alta especificidad hacia ligandos peptídicos con arginina en posición 2 (R2), la base de esta preferencia es una combinación casi única de residuos de aminoácidos en el bolsillo B<sub>[40]</sub>. En las dos ultimas teorías se conoce que la presencia de la Cisteína en la posición 67 (Cys67) provoca la formación de puentes disulfuro que afecta el plegamiento de la molécula de HLA B27 observándose esta características en otras moléculas de HLA B como son el HLA-B14, -B15, -B38 , -B39 y -B73<sup>[31, 41]</sup> Las moléculas que poseen un mal plegamiento que se expresan en la superficie de las células presentadoras hace que la respuesta innata del individuo se active provocando la activación de las células de inmunidad innata y la vía de Células TH17 que desencadenan la inflamación <sup>[41]</sup>

En estas teorías se involucran proteínas que participan en diferentes etapas del mecanismo del procesamiento y presentación antigénica que conllevan a la activación de la respuesta inmune desencadenando inflamación crónica y persistente. Los genes que las codifican han sido motivo de estudio para conocer la asociación de su polimorfismo y las SpA. Dentro de las que más se han estudiado y que se ha encontrado asociación en las SpA son las que se involucran en el plegamiento de la molécula de HLA, se ha encontrado en diferentes poblaciones la asociación entre el subtipo ERAP1 y pacientes con AS HLA-B27<sup>+</sup><sup>[42]</sup>. Otras proteínas que intervienen en la respuesta inmune innata estudiadas y que

se han encontrado asociadas en los pacientes HLA-B27+ son el receptor de células NK (KIR), con su subtipo KIR3DL1/3DS1 y el Receptor para IL-23 que es el eje central de la patogénesis de las SpA debido a que activa a la IL-17-IL-23, en el cual el SNP (Polimorfismo de un solo nucleótido) que más se ha asociado es el rs11209026, aunque este también se ha observado en otras patologías como son la Psoriasis y la Enfermedad inflamatoria intestinal.<sup>[43]</sup>

### **PAPEL DEL HLA B15**

Su asociación con las SpA se remontan a 1995 cuando el grupo de investigadores liderado por Mielants reporta que su cohorte de pacientes con diagnóstico de SpA y HLA-B27 de Bélgica negativos estaba asociada al HLA-Bw62, como antes se conocía a uno de los subtipos del B15. Ellos encontraron que la mayoría de estos pacientes correspondían a las formas de uSpA y se encontraban en remisión de los síntomas en el momento de una segunda evaluación.<sup>[45-47]</sup> Adicionalmente, en este grupo de pacientes aquellos que fueron HLA-B27+ tuvieron un curso más severo de la enfermedad, contrario a los pacientes B15, lo cual está en el mismo sentido de lo que posteriormente describió Vargas Alarcón y colaboradores en el 2002 en la población mexicana. <sup>[38]</sup> Estos investigadores describieron una fuerte asociación de este alelo con SpA, en su cohorte de 178 pacientes que estaba conformada por 64 AS, 83 uSpA y 25 ReA, el HLA-B15 estuvo presente en 41 (23,8%) del total de enfermos y 12 (12,6%) de los controles. Este alelo fue más frecuentemente encontrado en los pacientes con uSpA 25/83 (30,2%), el OR de toda la población con SpA fue 2,04 y de 2,75 en pacientes con uSpA. El subtipo que más predominó fue el B\*15:22, aunque no hacen diferencia del que encontraron en la población, cabe anotar que la técnica empleada era de mediana resolución y ellos proponen la determinación de los subtipos por una de alta resolución para determinar con mejor precisión los subtipos. La presencia del HLA-B15 predominó en pacientes con formas de inicio más tardía, más leve y con mejor pronóstico que los pacientes con HLA-B27<sup>[38]</sup>.

Un estudio más reciente realizado en población del norte de África (Túnez) encontró asociación del HLA-B15 con formas indiferenciadas de Oligoartritis y ReA. De un total de 28 pacientes, 14,3% fueron positivos para el B15, mientras que solo se encontró en 2% de los controles. La fuerza de asociación de este alelo con la enfermedad fue de OR 8,2.<sup>[48]</sup>

En una cohorte de pacientes que pertenecen a la Clínica de Espondiloartritis de un Hospital de referencia en Colombia, quienes son evaluados por un grupo de expertos de acuerdo a las recomendaciones de ASAS, el hallazgo más significativo de este estudio corresponde a la asociación encontrada entre el HLA-B15 con todas las formas de SpA. El 23,3% de los enfermos fueron positivos para este alelo, mientras que, solo estuvo presente en el 1.2% de la población control. El B15 es un alelo muy poco frecuente en la población colombiana, menos del 2%, como ha sido reportado previamente en estudio de tipificación en población sana.<sup>[49, 50]</sup> A dichos pacientes que fueron B15 positivos se les realizó la subtipificación de dicho alelo mediante la técnica de secuenciación de los exones 2, 3 y 4 utilizando el estuche de la casa comercial Abbott® AlleleSEQR HLA Sequencing Kit – Combined Protocol Core + HARP. Se analizaron las secuencias en la plataforma de Genomics Assign 3.5 (Conexio Genomics, Western Australia), que utiliza la base de datos IMGT, versión julio de 2012<sup>[44]</sup>. Los controles que solo fueron 2 presentaron el mismo subtipo B\*15:10:01 y los 20 pacientes otro subtipo diferente dentro de los más frecuentes fueron HLA-B\*15:17, B\*15:65, B\*15:52, B\*15:61. En este estudio no se encontró el subtipo B\*15:22 que reportaron los mexicanos en el 2002, aunque se debe aclarar que la técnica empleada por ellos era de mediana resolución a diferencia de la empleada en el estudio que es de alta resolución. Los pacientes tenían un patrón de presentación de la enfermedad de tipo periférico. Lo que supone que las moléculas B\*15 de los controles tienen características diferentes que la de los pacientes y este subtipo podría no estar asociado al desencadenamiento de la enfermedad principalmente por la presencia de la Cys67 que lo convierte en una molécula capaz de formar homodímeros y un mal plegamiento de la molécula como lo hace el B27 y cuyas teorías que implican esta

característica de la molécula y que desencadenan una inflamación crónica que se observa en estas patologías. [41]

La asociación del alelo HLA-B15 en las formas indiferenciadas uSpA en diferentes poblaciones; belga,<sup>[37]</sup> mexicana<sup>[38]</sup>, tunecina<sup>[19]</sup> y colombiana<sup>[39]</sup>, demuestra que ésta traspasa regiones geográficas y raciales, lo que hace suponer que este puede ser un gen candidato en la susceptibilidad de desarrollar SpA principalmente en formas indiferenciadas, abriendo una ventana de oportunidad a los pacientes para obtener un diagnóstico temprano, un mejor tratamiento y un seguimiento oportuno que le ayude a tener una mejor calidad de vida.

## **CONCLUSIONES**

Desde hace 40 años se ha asociado el alelo HLA-B27 con la susceptibilidad de desarrollar principalmente AS, aunque hay evidencia de que otros alelos no-B27 también pueden estar involucrados, como es el HLA-B15 en la población colombiana. Las variantes genéticas implicadas en las manifestaciones y características de las SpA abren una ventana de oportunidad para los pacientes, lo cual se convierte en un reto para los próximos años y por lo tanto ser marcadores de predicción en la evolución de la enfermedad, en el pronóstico, severidad y actividad de los subgrupos de SpA en las diferentes poblaciones. Adicionalmente, el HLA-B15 podría ser incluido como un marcador de presentación de compromiso periférico en las SpA en nuestra población.

Se deben realizar estudios proteómicos similares a los realizados en las moléculas de HLA-B27 y B14 que permitan conocer el papel en la patogenia del HLA-B15, debido a su semejanza estructural en las moléculas, observar el comportamiento de acoplamiento de péptidos, presentación antigénica, formación de homodímeros y genes asociados que podrían determinar su etiopatología y conocer realmente cual es el mecanismo disparador de la enfermedad en individuos genéticamente susceptibles.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Saraux A, G.F., Guggenbuhl P, Roux C, Fardellone P, Bihan E, Cantagrel A, Chary-Valckenaere I, Euller-Ziegler L, Flipo R, Juvin R, Behier J, Fautrel B, Masson C and, Coste J, *Prevalence of spondyloarthropathies in France:2001* Ann Rheum Dis 2005. **64**(5): p. 1431.
2. Chou C. T, L.K.C., Wei J. C. C, Tsai W. C, Ho H.H, Hwang C.M, Cherng, J.M, Hsu C.M and Yu D.T, *Study of undifferentiated spondyloarthropathy among first-degree relatives of ankylosing spondylitis probands.* Rheumatology, 2005. **44**: p. 4.
3. Enhrenfel M, *Spondyloarthropathies.* Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 2012. **26**: p. 135 - 145.
4. Zochling J, B.J.a.B.J., *The current concept of spondyloarthritis with special emphasis on undifferentiated spondyloarthritis.* Rheumatology, 2005. **44**: p. 9.
5. Rudwaleit M, L.R., Van der Heijde D, Listing J, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Collantes-Estevez E, Davis J,Dijkmans B, *The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part I): classification of paper patients by expert opinion including uncertainty appraisal.* Annals of the rheumatic diseases, 2009. **68**(6): p. 770-776.
6. Rudwaleit M, v.d.H.D., Landewé R, Akkoc N, Brandt J, Chou CT, Dougados M, Huang F, Gu J, Kirazli Y., *The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general.* Annals of the rheumatic diseases, 2011. **70**(1): p. 25-31.
7. Shapira Y, A.-L.N., Shoenfeld Y., *Geoepidemiology of autoimmune rheumatic diseases.* Nature Reviews Rheumatology, 2010. **6**(8): p. 468-476.
8. Ehrenfeld M, *Geoepidemiology: the environment and spondyloarthropathies.* Autoimmunity Reviews, 2010. **9**(5): p. A325-A329.
9. Khan MA, M.A., Sorrentino R, Akkoc N., *The pathogenetic role of HLA-B27 and its subtypes.* Autoimmunity Reviews, 2007. **6**(3): p. 183-189.
10. Valle-Oñate R, C.L., Romero-Sánchez C, Iglesias-Gamarra A, Caballero-Uribe CV, Santos-Moreno P, Reyes E, Londoño J., *Epidemiology of spondyloarthritis in Colombia.* Am J Med Sci. , 2011. **341**(4): p. 293-4.
11. Londono J, G.L., Ramirez L, Santos P, Ávila, M, Santos, A.M, Romero, C. Valle, R.R., *Caracterización de las espondiloartropatías y determinación de factores de mal pronóstico en una población de pacientes colombianos.* Revista Colombiana de Reumatología, 2005. **12**(3): p. 195-207S.
12. Márquez J, P.L., Candia D, Restrepo M., *Espondiloartritis en el Hospital Pablo Tobón Uribe. Descripción de una cohorte.* Rev Col Reum, 2010. **17**: p. 80-85.
13. Velásquez EP, Q.J., Aristizábal BH, Rincón OL, Velásquez CJ , Pinto LF et al . *Frecuencia de alelos HLA de clase I y II en una cohorte de pacientes con espondiloartritis provenientes del noroccidente colombiano.* Biomedica, 2012. **32**(1): p. 10 - 31.
14. Brown MA, K.L., MacGregor AJ et al, *Susceptibility to ankylosing spondylitis in twins: the role of genes, HLA, and the environment.* Arthritis Rheuma, 1997. **40**: p. 1823 - 1828.
15. Reveille JD, *The genetic basis of ankylosing spondylitis.* Current opinion in rheumatology, 2006. **18**(4): p. 332-341.
16. WTCCC, T., Burton PR et al, *Association scan of 14,500 nonsynonymous SNPs in four diseases identifies autoimmunity variants.* Nat Genet, 2007. **39**: p. 1329 - 37.
17. TASC, R.J., Sims AM et al *Genome-Wide association study of ankylosing spondylitis identifies non-MHC.* Nat Genet, 2010. **42**: p. 123-7.
18. Young Ho Lee, S.J.C., Jong Dae Ji and Gwan Gyu Song, *Associations between ERAP1 polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility: a meta-analysis.* Inflamm Res, 2011. **60**(11): p. 999 -1003.
19. Lee YH, C.S., Ji JD, Song GG., *Associations between interleukin-23R polymorphisms and ankylosing spondylitis susceptibility: a meta-analysis.* Inflamm Res, 2012. **60**(11): p. 999 -1003.



20. Lin Z, B.J., Shen M, Li Q, Liao Z, Zhang Y, Lv Q, Wei Q, Low HQ, Guo YM, Cao S, Yang M, Hu Z, Xu M, Wang X, Wei Y, Li L, Li C, Li T, Huang J, Pan Y, Jin O, Wu Y, Wu J, Guo Z, He P, Hu S, Wu H, Song H, Zhan F, Liu S, Gao G, Liu Z, Li Y, Xiao C, Li J, Ye Z, He W, Liu D, Shen L, Huang A, Wu H, Tao Y, Pan X, Yu B, Tai ES, Zeng YX, Ren EC, Shen Y, Liu J, Gu J., *A genome-wide association study in Han Chinese identifies new susceptibility loci for ankylosing spondylitis*. Nat Genet, 2011. **4**(44): p. 73-7.
21. Robinson J, M.S., *The IMGT/HLA database*. . Methods Mol Biol. , 2007. **409**: p. 17.
22. Kulski K, S.A., Shiina T, Ota M, Hosomichi K, James I and Inoko H. , *Human Endogenous Retrovirus (HERVK9) Structural Polymorphism With Haplotypic HLA-A Allelic Associations*. Genetics, 2008. **180**: p. 3.
23. Alleles. <http://hla.alleles.org>. 2011.
24. Chou C. T, L.K.C., Wei J. C. C, Tsai W. C, Ho H.H, Hwang C.M, Cherng, J.M, Hsu C.M and Yu D.T, *Study of undifferentiated spondyloarthritis among first-degree relatives of ankylosing spondylitis probands*. Rheumatology, 2005. **44**(1483-1491).
25. Marsh S, E.D.A., W. F. Bodmer, R. E. Bontrop, B. Dupont, H. A. Erlich, M. Fernandez-Viña, D. E. Geraghty, R. Holdsworth, C. K. Hurley, M. Lau, K. W. Lee, B. Mach, M. Maiers, W. R. Mayr, C. R. Müller, P. Parham, E. W. Petersdorf, T. Sasazuki, J. L. Strominger, A. Svejgaard, P. I. Terasaki, J. M. Tiercy & J. Trowsdale, *Nomenclature for factors of the HLA system*. Tissue antigens, 2010. **75**(4): p. 291 - 455.
26. Choo S, *The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing and Clinical Implications*. Yosei Medical Journal, 2007. **48**(1): p. 13.
27. Khan MA., *B7-CREG and ankylosing spondylitis*. Br J Rheumatol, 1983. **22**(4): p. 129 - 33.
28. Rey D, A.C., Enríquez-de-Salamanca M, Parga-Lozano C, Abd-El-Fatah S, Fernández M, Arnaiz-Villena A., *Los primeros pobladores de América y sus relaciones con poblaciones del Océano Pacífico según los genes HLA*. Inmunología, 2012.
29. Marsh SG, W.N.C.f.F.o.t.H.S., *Nomenclature Committee for Factors of the HLA System Nomenclature for factors of the HLA system, update* Tissue Antigens., 2009. **73**(1): p. 2.
30. Bakker A, H.R., Linnemann C, Toebes M, Rodenko B, Berkers C, Hadrup S, Esch W, Heemskerk M, Ovaas H, and Schumacher T, *Conditional MHC class I ligands and peptide exchange technology for the human MHC gene products HLA-A1, -A3, -A11, and -B7*. PNAS, 2008. **11**: p. 5.
31. McHugh K, B.P., *The link between HLA-B27 and SpA--new ideas on an old problem*. Rheumatology, 2012. **51**(9): p. 1529-39.
32. Feltkamp TEW, *HLA-B27 and B27-Subtypes in the Pathogenesis of Ankylosing Spondylitis*. Current Rheumatology Reviews, 2005. **1**: p. 223 - 225.
33. López de Castro JA, *HLA-B27 and the pathogenesis of spondyloarthropathies*. Immunol Lett, 2007. **108**(1): p. 27-33.
34. Reveille J, *Major histocompatibility genes and ankylosing spondylitis*. Best Practice & Research Clinical Rheumatology, 2006. **20**: p. 9.
35. Brown M, *Genetics of ankylosing spondylitis*. Curr Opin Rheumatol 2010. **22**: p. 14.
36. Merino E, M.V., Paradela A, and Lopez de Castro J, *Two HLA-B14 Subtypes (B\*1402 and B\*1403) Differentially Associated with Ankylosing Spondylitis Differ Substantially in Peptide Specificity but Have Limited Peptide and T-cell Epitope Sharing with HLA-B27*. J Biol Chem 2005. **280**: p. 12.
37. Mielants H, V.E., De Vos M, Cuvelier C, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Elewaut D., *The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. I. Clinical aspects*. J Rheumatol, 1995. **22**(12): p. 2266 - 2272.
38. Vargas-Alarcón G, L.J., Hernández-Pacheco G, Pacheco-Tena C, Castillo E, Cardiel MH, Granados J, Burgos-Vargas R, *Effect of HLA-B and HLA-DR genes on susceptibility to and severity of spondyloarthropathies in Mexican patients*. Ann Rheum Dis, 2002. **61**(8): p. 4.
39. Londoño J, G.L., Ramírez L, Santos P, Ávila M, Santos AM, Romero C, Valle R. , *Caracterización de las espondiloartropatías y determinación de factores de mal pronóstico en una población de pacientes colombianos*. Rev Col Reumatol, 2005. **12**: p. 12.

40. Madden DR, G.J., Strominger JL, Wiley DC., *The three-dimensional structure of HLA-B27 at 2.1 Å resolution suggests a general mechanism for tight peptide binding to MHC*. Cell, 1992. **70**(6): p. 1035-48.
41. Díaz-Peña R, L.-V.A., López-Larrea C., *Old and new HLA associations with ankylosing spondylitis*. Tissue Antigens., 2012. **80**(3): p. 205-13.
42. Maksymowych WP, I.R., Gladman DD, Reeve JP, Pope A, Rahman P., *Association of a specific ERAP1/ARTS1 haplotype with disease susceptibility in ankylosing spondylitis*. Arth. Rheumatism, 2009. **60**(5): p. 1317 - 1323.
43. Reveille JD, *Genetics of spondyloarthritis--beyond the MHC*. Nat Rev Rheumatol. , 2012. **10**(8): p. 296 - 304.
44. IMGT/HLA Database. *IMGT/HLA Database*. 2012.
45. Mielants H, V.E., De Vos M, Cuvelier C, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Elewaut D., *The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. I. Clinical aspects*. The Journal of rheumatology, 1995. **22**(12): p. 2266.
46. Mielants H, V.E., Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Elewaut D., *The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. II. Histological aspects*. The Journal of rheumatology, 1995. **22**(12): p. 2273-8.
47. Mielants H, V.E., Cuvelier C, De Vos M, Goemaere S, De Clercq L, Schatteman L, Gyselbrecht L, Elewaut D., *The evolution of spondyloarthropathies in relation to gut histology. III. Relation between gut and joint*. The Journal of rheumatology, 1995. **22**(12): p. 2279-84.
48. Siala M, M.N., Fourati H, Gdoura R, Younes M, Kammoun A, Chour I, Meddeb N, Gaddour L, Hakim F, *MHC class I and class II genes in Tunisian patients with reactive and undifferentiated arthritis*. Clinical and experimental rheumatology, 2009. **27**(2): p. 208-213.
49. Avila L, C.A., Franco L, Briceño I, Casas MC, Gomez A, *Bajo polimorfismo en el sistema de antígenos de leucocitos humanos en población mestiza colombiana*. Univ. Méd. Bogotá, 2010. **51**(4): p. 359 - 371.
50. Rodríguez L, G.M., García N, Velásquez L, París S, Álvarez C, García L. , *Frecuencias alélicas, genotípicas y haplotípicas HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1 en donantes fallecidos, Medellín, Colombia*. Biomedica, 2007. **27**: p. 10.



NIT. 860.007.386-1

SISTEMA DE BIBLIOTECAS  
IDENTIFICACIÓN TRABAJO DE  
GRADO

FECHA DE ELABORACIÓN

DD	MM	AAAA
22	01	2013

**I. IDENTIFICACIÓN AUTOR(ES) DEL TRABAJO DE GRADO**

CÓDIGO	DOCUMENTO DE IDENTIDAD		APELLIDOS	NOMBRES	CORREO ELECTRÓNICO
	TIPO	NÚMERO			
198724573	CC	39784477	SANTOS GRANADOS	ANA MARIA	am.santos208@uniandes
	CC				
	CC				
	CC				
	CC				
	CC				

PROGRAMA Doctorado  
FACULTAD Facultad de Ciencias  
DEPARTAMENTO Departamento de Ciencias Biológicas

**ENTREGÓ FORMATO:**

SB-10 "Entrega trabajo de grado y autorización de uso a favor de la Universidad de los Andes"  
Documento con el cual el autor permite que su trabajo sea utilizado por la Universidad, para fines de consulta y de mención en sus catálogos bibliográficos, tanto físicos como en línea

**I.1 IDENTIFICACIÓN DE TRABAJO DE GRADO PARA DOBLE TITULACIÓN**

		TESIS PARA DOBLE TITULACIÓN
PROGRAMA	No Aplica	<input type="checkbox"/> Si el trabajo de grado presentado aplica para obtener dos (2) titulaciones, por favor marque esta casilla y diligencie la información de esta sección
FACULTAD	No Aplica	
DEPARTAMENTO	No Aplica	

**2. INFORMACIÓN GENERAL DEL TRABAJO DE GRADO****TÍTULO DEL TRABAJO DE GRADO:**

ASOCIACIÓN DEL ANTÍGENO DE HISTOCOMPATIBILIDAD HLA-B15 Y ESPONDILOARTRITIS, SU INFLUENCIA EN LA PRESENTACIÓN CLÍNICA Y PRONÓSTICO EN LA COHORTE DE PACIENTES DEL HOSPITAL MILITAR CENTRAL.

DESCRIPCIÓN FÍSICA	MATERIAL ACOMPAÑANTE (Cantidad)		FECHA DE ELABORACIÓN		
	DD	MM	AAAA		
Número de páginas: 58	Casetes	Discos			
Ilustraciones	Audio:	compactos			
	Casetes	Diapositivas:			
	Video:	Otros:			
	Disquetes.	¿Cuáles?			

**\* RESUMEN DEL TRABAJO DE GRADO:**

**Background:** There is substantial evidence that non-B27 MHC genes are SpA -associated. There is information related to association of diseases with presence of HLA-B15 in Mexican and Tunisian population

**Objectives:** To evaluate the association of HLA-B antigens in a group of Colombian patients with established diagnosis of SpA.

**Methods:** A total of 189 patients with diagnosis of SpA according to the European Spondyloarthritis Study Group Classification Criteria, were evaluated in an outpatient clinic between 2001 and 2011 in Bogota City. Demographic, clinical, radiological and laboratory findings (including HLA typing) were collected following the ASAS recommendations. A total of 189 patients have a complete characterization of HLA allele A, B, and DR. 100 unrelated healthy subjects were included in the study as a control group. The comparison between the different allele frequencies in the patient groups and the control population was performed using chi-square, with Bonferroni correction, a p-value <0.05 was considered to be significant. The magnitude of association was assessed using odds ratio (OR) and confidence intervals of 95%. To establish the homogeneity of the groups studied, we used the Hardy-Weinberg disequilibrium.

**Results:** 189 patients (ReA: 35; AS: 87 and uSpA: 67); 119 (63,8%) men and 68 (36,2%) women, with an average age of 35.9±12.7 years were studied. 77 (40,7%) patients were HLA-B27+ (AS: 46 (52,9%), 16 (45,7%) ReA, 15 (22,4%) uSpA), axSpA 71 (42,5%) and pSpA 59 (34,5%) while it was present in 7 (4,1%) of controls. 44 (23,3%) patients were HLA-B15 + (AS 18 (20,6%), 8 (17,1%) ReA, 16 (23,8%) uSpA, axSpA 21 (12,57%) and pSpA 20 (11,7%). Two (2%) of controls were positive for HLA-B15. In addition to analyze the HLA DR was observed the association with HLA DRB1\*01 were AS: 51 (58,6%), 7 (20%) ReA, 13 (19,4%) uSpA, axSpA 71 (42,5%), pSpA 36 (21,1%) and 5% of controls were positive. HLA DRB1\*04 were AS: 62 (71,2%), 8 (22,8%) ReA, 27 (22,8%) uSpA, AxSpA 26 (15,5%), pSpA 27 (15,7%) and 11% of controls were positive

**Conclusions:** In this population there is a strong association between the presence of HLA-B27 and the diagnosis of SpA, but the HLA-B15 is also significantly associated with all subtypes of disease. Additionally, the association with HLA DR1 and DR4 in a cohort of patients with SpA in Colombia.

**Background:** The most common presentation of SpA in relation to HLA-B15 in other population studies was related to peripheral compromise.

**Objective:** To determine differences in clinical presentation and outcomes of the disease among HLA-B15+, HLA-B27- and non B27-B15 patients.

**Method:** 177 patients with a diagnosis of SpA according to the ESSG criteria were studied. Survey and labs differentiated comparisons with HLA-B27, B15, and other B alleles.

**Results:** The most strongest association was observed for HLA-B15 (OR=20,8 IC: 4,4-134,9 ) in uSpA; HLA-B27 (OR=15,7 IC 6,1-41,8) in AS; HLA-B15 (OR=15,4, IC 3,6-65,4) in pSpA, and HLA-B27, OR=9,8 IC: 4,3-22,5) in axSpA. Age of onset was lower in B15 and B27 (28.2±9,4 and 27.7±10.5) compared with other B alleles 32.6±10.9. (p=0,005). B27 (78,3%) was more prevalent in males; B15 (44,1%) and other B alleles (61,8%). uSpA was more present in B15 (50%) than B27 (20,3%) and other B alleles (32,7%). Patients with B15 had more peripheral entesitis involvement and joint inflammation 3.4±2.9 vs 2.4±2.2 (p=0,05) and 5,3±5.1 versus 2.3±1.8 (p=0,04). B27 had more axial components: sacroiliitis in pelvic radiographs 74% vs 56.3% (p=0,04) and acute changes on MRI 46,2% vs 25%. More patients with B27 (100%) met criteria for axial type than B15 (81%) while more patients with B15 (100%) met criteria for peripheral type than B27 (85.5%).

**Conclusion:** Our cohort showed that HLA-B15 was associated with the peripheral phenotype of SpA. HLA-B15 may become an important tool and marker for disease in our population, predominantly in those with peripheral SpA without HLA-B27.

**OBJETIVOS DEL TRABAJO DE GRADO:**

**METODOLOGÍA DEL TRABAJO DE GRADO**

**CONCLUSIONES DEL TRABAJO DE GRADO.**

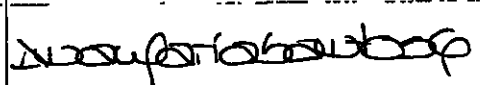


**· PALABRAS CLAVES (TEMAS) DEL TRABAJO DE GRADO:**

Espondiloartritis, Complejo Mayor de Histocompatibilidad, HLA-B15, Espondiloartritis periférica, Espondiloartritis axial

**ACUERDOS DE CONFIDENCIALIDAD. ☉ NO TIENE ACUERDO(S) ☉ TIENE ACUERDO(S)**

Si selecciona tener acuerdo de confidencialidad, por favor diligencie el siguiente cuadro:

Persona natural o jurídica	Desde			Hasta		
	DD	MM	AAAA	DD	MM	AAAA


3. FIRMAS	
AUTORES (Nombre completo)	FIRMAS
DNA MARIA SANTOS GRANADOS	
DIRECTORES / ASESORES (Nombre completo)	FIRMAS
CARLOS ALBERTO JARAMILLO H.	
JOHN DARIO LONDOÑO P.	
JURADO / LECTOR (Nombre completo)	FIRMAS
	
Las firmas de Autor y Director/Asesor son obligatorias. Si tiene inconvenientes con el registro de la firma del Jurado/Lector, deberá tramitar ante la respectiva Facultad la autorización para registrar las firmas de pares o un sello que justifique la ausencia de la firma faltante.	

SB-09

Verificar Información | Imprimir

**ENTREGA EJEMPLAR TRABAJO DE GRADO Y AUTORIZACIÓN DE SU USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES**

Yo **Ana María Santos Granados**, mayor de edad, vecino de Bogotá D.C., identificado con la Cédula de Ciudadanía N° **39.784.477** de **Usaquén**, actuando en nombre propio, en mi calidad de autor del trabajo de tesis, monografía o trabajo de grado denominado:

**ASOCIACIÓN DEL ANTÍGENO DE HISTOCOMPATIBILIDAD HLA-B15 Y ESPONDILOARTRITIS, SU INFLUENCIA EN LA PRESENTACIÓN CLÍNICA Y PRONÓSTICO EN LA COHORTE DE PACIENTES DEL HOSPITAL MILITAR CENTRAL.**

hago entrega del ejemplar respectivo y de sus anexos del ser el caso, en formato digital o electrónico (CD-ROM) y autorizo a LA UNIVERSIDAD DE LOS ANDES, para que en los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia, utilice y esu en todas sus formas, los derechos patrimoniales de reproducción, comunicación pública, transformación y distribución (alquiler, préstamo público e importación) que me corresponden como creador de la obra objeto del presente documento.

PARÁGRAFO. La presente autorización se hace extensiva no sólo a las facultades y derechos de uso sobre la obra en formato o soporte material, sino también para formato virtual, electrónico, digital, óptico, usos en red, internet, extranet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer.

EL AUTOR - ESTUDIANTES, manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y la realizó sin violar o usurpar derechos de autor de terceros, por lo tanto la obra es de su exclusiva autoría y tiene la titularidad sobre la misma.

PARAGRAFO: En caso de presentarse cualquier reclamación o por acción por parte de un tercero en cuanto a los derechos de autor sobre la obra en cuestión, EL ESTUDIANTE - AUTOR, asumirá toda la responsabilidad, y saldrá de defensa de los derechos aquí autorizados; para todos los efectos la Universidad actúa como un tercero de buena fe.

Para constancia se firma el presente documento en dos (2) ejemplares del mismo valor y tenor, en Bogotá D.C.,

a los **veintidos** **22** días del mes de **Enero** de Dos Mil **trece** **2013**

**EL AUTOR - ESTUDIANTE.**

(Firma)



Nombre

**Ana María Santos Granados**

Cédula

**39.784.477**

de **Usaquén**