

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN SUR DEL DISTRITO FEDERAL
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI**

**VÍA DE HERENCIA Y FRECUENCIA DE SUBTIPOS O ALELOS DEL HLA-B*27 EN
FAMILIAS DE PACIENTES CON ESPONDILITIS ANQUILOSANTE B*27 POSITIVAS
Y SU ASOCIACIÓN CON EL GÉNERO DEL HIJO(A) AFECTADO, LA EDAD DE
INICIO Y LA SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD.**

**TESIS QUE PRESENTA
DRA. ANA PATRICIA NAVARRETE REYES
PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD EN
MEDICINA INTERNA**

ASESOR: DR. FRANCISCO JAVIER JIMÉNEZ BALDERAS

MÉXICO D.F. AGOSTO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DRA. DIANA G. MENEZ DÍAZ
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI

DR. JOSÈ HALABE CHEREM
PROFESOR TITULAR DEL CURSO
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI

DR. FRANCISCO JAVIER JIMÉNEZ BALDERAS
ASESOR DE TESIS
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI

COAUTORES

EBC Julio César Martínez Álvarez

Responsable de Laboratorio de Histocompatibilidad y HLA del Banco de Sangre del Centro Médico Nacional SXXI. Instituto Mexicano del Seguro Social

QFB Araceli Arrazola García

Responsable de Laboratorio de Histocompatibilidad y HLA del Hospital De Especialidades, Centro Médico Nacional SXXI. Instituto Mexicano del Seguro Social

Dr. Raúl Ambriz Hernández

Jefe del Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional SXXI. Instituto Mexicano del Seguro Social

Dra. Beatriz García Robles

Residente de Radio-oncología .Hospital De Oncología, Centro Médico Nacional SXXI. Instituto Mexicano del Seguro Social

AGRADECIMIENTO

**“A mi familia (original y adoptiva) y a todos mis amigos, por su apoyo
incondicional”**

“A todos mis maestros”

INDICE**PÀGINAS**

Portada.....	1
Hoja de Firmas.....	2
Coautores.....	3
Agradecimientos.....	4
Índice.....	5
Resumen.....	6
1. Introducción.....	7-8
2. Planteamiento del problema.....	9
3. Marco teórico.....	10-14
4. Objetivo.....	15
5. Justificación.....	15
6. Material y métodos.....	16-17
7. Consideraciones éticas.....	17
8. Resultados.....	18-24
9. Análisis y discusión.....	25-26
10. Conclusiones.....	27
11. Recomendaciones.....	27
12. Anexos.....	28-34
13. Bibliografía.....	35-37

RESUMEN

OBJETIVO: Identificar los subtipos de HLA-B*27 expresados por pacientes con Espondilitis Anquilosante (EA) del servicio de Reumatología HE CMN Siglo XXI, así como su vía de herencia y correlacionar tales subtipos con la edad de presentación y severidad de la enfermedad. También, correlacionar la edad materna y paterna al nacimiento del paciente así como su género con la edad de presentación y severidad de la enfermedad (por BASFI, Bath Ankylosing Spoldylitis Functional Index).

MATERIAL Y MÉTODOS: Los pacientes incluidos fueron aquellos con diagnóstico de EA definido por los criterios de Nueva York y que contasen con ambos padres vivos. Se excluyeron aquellos pacientes quienes no contasen con ambos padres vivos y disponibles para el estudio. Se determinaron los tipos de HLA-B, y en su caso el subtipo de HLA-B*27, de cada paciente y sus progenitores a través de la técnica de amplificación de PCR con iniciadores de secuencia específica. Se evaluó la actividad de la EA al momento de la toma de la muestra aplicándose la escala BASFI y se realizó una entrevista con el fin de determinar la edad de inicio de la sintomatología y la edad materna y paterna al nacimiento del paciente. Para el análisis, se utilizó estadística descriptiva, medidas de tendencia central y de dispersión dependiendo de la distribución de las variables. Para la identificación de asociaciones se utilizó *rho* de Spearman en caso de variables ordinales y Correlación de Pearson en caso de numéricas, con subsecuente *t* de student o Chi cuadrada acorde al caso. Se consideró significativa *p* igual o menor a 0.5 con IC del 95%.

RESULTADOS: Se incluyeron 19 pacientes con diagnóstico de EA definida por criterios de New York, catorce fueron HLA-B*27 positivos. Once del género masculino (78.6%) y tres del femenino (21.4%), que oscilaron entre los 18 y los 48 años de edad, (media de 26.5 ± 7.5). La molécula fue heredada por vía paterna en 8 casos (57.1%) y por vía materna en 6 casos (42.9%). Trece de los catorce casos (92.9%) presentaron el subtipo B*270502-0507 y sólo uno (masculino de 18 años, heredado por vía paterna, 7.1%) el B*2702. No se corroboró ninguna de las asociaciones mencionadas en el texto previo.

CONCLUSIÓN: Los pacientes mestizos-mexicanos con EA heredan frecuentemente el HLA-B*27 por vía paterna a hijos del género masculino, siendo el subtipo más frecuentemente heredado el HLA-B*270502-0507. No se identificaron asociaciones en cuanto a severidad y edad de inicio de la enfermedad.

1. INTRODUCCIÒN

La EA es una enfermedad inflamatoria crónica de etiología desconocida asociada al antígeno humano leucocitario (HLA-B*27). Generalmente afecta las articulaciones sacroiliacas en estadios tempranos y puede afectar el esqueleto axial más tardíamente. La artritis periférica puede o no ser una característica importante. La enfermedad puede acompañarse de manifestaciones extra-articulares, tales como uveitis anterior aguda, incompetencia aórtica, defectos de conducción cardíaca, fibrosis pulmonar, cambios neurológicos, o alteraciones renales secundarias a amiloidosis.

La EA pertenece al grupo de las espondiloartropatías. Este grupo de desordenes constituye una familia de condiciones relacionadas pero heterogéneas más que una sola entidad clínica con diferentes manifestaciones clínicas. Entre las de mayor importancia encontramos al síndrome de Reiter, la artropatía asociada a la enfermedad intestinal inflamatoria, la artritis psoriásica, la espondiloartropatía indiferenciada y la EA de inicio juvenil.

Entre sus características clínicas de importancia se encuentra su patrón típico de afección periférica, siendo predominante de miembros inferiores y asimétrico, así como la tendencia a evidenciar sacroilitis radiográfica, la ausencia de factor reumatoide (FR), así como de nódulos subcutáneos u otras manifestaciones extraarticulares de la artritis reumatoide (AR).

Generalmente hay agregación familiar significativa y asociación con HLA-B*27.

En cuanto a los antecedentes históricos de la patología; en 1850, Brodie describió las características clínicas de un hombre de 31 años de edad que había desarrollado anquilosis espinal y “quien ocasionalmente sufría de inflamación severa del ojo”. En 1884, Struempell (Alemania) describió dos pacientes quienes demostraban anquilosis espinal y de las articulaciones de la cadera. Este reporte se siguió de descripciones de la patología por von Bechterew (Rusia) y Pierre Marie (Francia). Roentgen había desarrollado ya su técnica radiográfica para 1896, pero no fue útil hasta 1930 cuando la enfermedad sacroiliaca, ahora considerada la característica predominante de la EA, fue totalmente reconocida.

El término EA deriva del griego ankylos (“doblado”) aunque actualmente implica fusión o adhesión, y spondylos (“disco vertebral”). Debido a que la anquilosis espinal aparece en estadios tardíos de la enfermedad y no ocurre en muchos pacientes con enfermedad leve, se ha sugerido que la entidad debería llamarse más bien espondilitis o enfermedad espondilítica.

El espectro de espondiloartropatías es muy extenso, además de las patologías ya mencionadas, incluye también otras oligoartritis seronegativas como la dactilitis o poliartritis de los miembros inferiores, las entesitis, y otras espondiloartropatías no diferenciadas.

El grupo de estudio europeo para las espondiloartropatías ha desarrollado criterios de clasificación para todas sus entidades. Estos criterios pueden ser útiles en la identificación de formas atípicas y poco diferenciadas.

Sin embargo, el diagnóstico de la EA se basa en características clínicas. La enfermedad es primaria o idiopática sino se asocia a otros desórdenes, y secundaria si está asociada a psoriasis o enfermedad intestinal inflamatoria.

En la práctica diaria, un diagnóstico presuntivo de EA se corrobora a través de la evidencia radiológica de sacroilitis. De cualquier forma, la presencia de sacroilitis no necesariamente significa EA. Aún más, a pesar de que la sacroilitis radiológica es muy frecuente en la EA, no es por ningún motivo una manifestación temprana u obligada de la enfermedad. Es dado lo anterior que existen diversos criterios de clasificación, probablemente los más populares son los de Nueva York, modificados en 1984 y los utilizados para definir la patología en este estudio (1).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 ¿Cuál es el subtipo de HLA-B*27 más frecuente en nuestra población?

1.2 ¿Cuál es su vía de herencia, materna o paterna?

1.3 ¿Existe correlación entre el subtipo heredado y la edad de inicio de la enfermedad o su severidad?

1.4 ¿Existe correlación entre la edad del padre o madre al nacimiento del paciente y la edad de inicio de la enfermedad o su severidad?

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Definición y epidemiología

La Espondilitis Anquilosante (EA) es una enfermedad inflamatoria que se caracteriza por afectar principalmente al género masculino (3-10:1). Se manifiesta por la presencia de astenia, adinamia, malestar general, lumbalgia y dolor glúteo., así como entesitis, artritis periférica, uveítis y en forma tardía, afectación cardíaca (bloqueos de rama, valvulopatía aórtica y mitral). Pertenece al grupo de las espondiloartropatías, de las cuales resaltan también el síndrome de Reiter, la espondiloartropatía indiferenciada, y la artropatía psoriásica (2).

La prevalencia de la EA es variable. En la población general es alrededor del 1% y puede ser hasta del 2% en población HLA-B*27 positiva. La prevalencia de EA en donadores sanguíneos es del 0.5-2% en general; en aquellos B*27 positivos llega a ser hasta del 25%. En encuestas de población, las razas negra y japonesa son las menos afectadas con menos de 1% de los casos, mientras que en los Canadienses y Noruegos se presenta del 4-7%. En México se estima que la prevalencia de la EA es del 5.5%, con alta frecuencia de inicio juvenil de la enfermedad en pacientes HLA-B*27 positivos. (3)

3.2 Fisiopatología y HLA-B*27

Se sabe que en la patogenia de esta enfermedad participan múltiples factores, incluyendo los genéticos (HLA-B*27) (con agregación familiar) y las condiciones del medio ambiente (bacterianas).

Los HLA-A, -B, y -C (clase I) son moléculas que se encuentran expresadas en la superficie de todas las células nucleadas. Están compuestas de un polipéptido (cadenas pesadas o alfa) comprimidas en la superficie de las células con una cadena ligera o beta (beta 2 microglobulina). La función de las moléculas clase I es presentar los péptidos intracelulares bacterianos o virales o péptidos tumorales que afectan a las células del huésped a los receptores antigénicos de las células T en los linfocitos T citotóxicos y activarlos, desencadenando la muerte de la célula anormal.

En cuanto a la molécula problema, conocemos que el HLA-B*27 comprende varios subtipos o alelos. Cada subtipo presenta variaciones en la prevalencia de acuerdo con factores étnicos a través del planeta.

Hasta la actualidad se han descubierto 25 subtipos de HLA-B*27 denominados desde el HLA-B*2701 hasta el HLA-B*2725. La secuencia de todos los subtipos está disponible.

Cada subtipo difiere de otro por sustituciones de uno o más aminoácidos en las dominios alfa 1 y alfa 2. El subtipo B*2705 está además subdividido en B*270502 al B*270507 por una sola sustitución de nucleótido.

El subtipo HLA-B*2705 es el más frecuente y claramente asociado con EA y espondiloartropatías seronegativas alrededor del mundo, exceptuando a la población de África occidental. Es virtualmente el único subtipo observado entre la población nativa de Siberia y Norteamérica y conforma el 90% de los individuos HLA-B*27 positivos del norte de Europa. Esto sugiere que el HLA-B*2705, puede ser el alelo ancestral del cual todos han evolucionado.

El subtipo HLA-B*2702 está claramente asociado con enfermedad y está presente en 4 a 10% de individuos nor-europeos con HLA-B*27 positivo y hasta 55% de la población semita (árabes y judíos) HLA-B*27 positivos.

Es posible que existan rangos jerárquicos entre algunos alelos de HLA-B*27 en términos de predisposición a la enfermedad. Esto puede variar de una forma de espondiloartropatía a otra, o de una raza a otra, o de una región geográfica a otra. Lo anterior explica porque algunos subtipos conllevan el mismo grado de susceptibilidad a la enfermedad. Por ejemplo, individuos con el HLA-B*2705 positivo acarrean alto riesgo relativo para Espondilitis Anquilosante y espondiloartropatías seronegativas alrededor del mundo, pero no en Gambia y Senegal (África occidental). Esta diferencia puede resultar en parte debido a otros factores genéticos predisponentes, ligados o no al HLA, o ser debida a factores no genéticos (4).

El HLA-B*39 comparte con el HLA-B*27 algunas similitudes incluyendo Glu45 y Cys67. Esto le confiere al HLA-B*39 la capacidad de unir péptidos con Arg2, similar al HLA-B*27. La frecuencia de HLA-B*39 es mayor entre los pacientes con espondilitis anquilosante HLA-B*27 negativos. Se describen además asociaciones del HLA-B*39 con artritis psoriásica de tipo axial y con la

progresión temprana de esta enfermedad. Estos hallazgos incentivan futuros análisis para dilucidar la especificidad antigénica de ambas moléculas (5).

En los últimos años, utilizando un variado número de técnicas se han estudiado los péptidos antigénicos unidos por los subtipos B*27 y se han definido las interacciones de los motivos de anclaje de estos péptidos con las subcavidades de la hendidura de unión.

La subcavidad F es la más variable entre los subtipos de B*27, por lo que los residuos polimórficos que presenta pueden ser cruciales para la susceptibilidad a Espondilitis Anquilosante. El subtipo B*2706 tiene dos sustituciones respecto a B*2705 en la cavidad C/F, Asp por Ser 77 y Asp por Tyr116, las cuales hacen que esta subcavidad esté menos cargada negativamente e impiden, o al menos disminuyen, la afinidad por los péptidos con residuos cargados positivamente en P9. B*2706 discrimina drásticamente entre residuos polares y no polares en P9, presentando gran afinidad por residuos alifáticos voluminosos (Leu y Phe) y escasa afinidad por residuos básicos y Tyr (6,7). B*2709 es incapaz de unir péptidos hidrofóbicos en esta posición (8). Todos estos datos nos permiten deducir la posible estructura del péptido artritogénico.

En resumen, parece que las subcavidades D y F determinan la afinidad de unión del péptido artritogénico por los diferentes subtipos de B*27 y, por lo tanto, la susceptibilidad de estos a la EA. Dado lo anterior, el supuesto péptido artritogénico sería compatible con la presencia de Arg en P2, un residuo hidrofóbico en P3 y Tyr en P9(9).

Un péptido cercano de la molécula de HLA-B*27 (del residuo 169 al 179) se une más eficientemente a B*2705, con afinidad suficiente como para ser presentado *in vivo*. Sin embargo, no se ha encontrado relación entre los subtipos de HLA-B*27 a los que se une este péptido y la presencia de enfermedad ya que por ejemplo este péptido se une *in vivo* más eficientemente a B*2706 (no asociado a enfermedad en tailandeses) que a B*2704, mientras que por otra parte no se une al subtipo B*2703(10).

Se ha demostrado que los epítopes serológicos de HLA-B*27 en pacientes con EA pueden modificarse en el curso de la enfermedad. Esta alteración de la expresión de las moléculas HLA-B*27 parece producirse tras la fagocitosis de ciertas bacterias como *Yersinia enterocolitica*(11) y *Salmonella enteritidis* (12). Estos cambios consistirían en la modificación de residuos de la molécula B*27,

con lo que cambiarían los péptidos presentados o en modificaciones postranscripcionales que impiden que la molécula alcance la membrana plasmática. Todo esto interfiere en la eliminación de estas bacterias y por tanto en la persistencia de la infección que se da en los individuos que padecen estas enfermedades.

Otro mecanismo por el que se favorece la persistencia de infecciones bacterianas podría ser el aumento de formas solubles de HLA-B*27. Estas formas solubles se producen por "splicing" alternativo de los transcritos de ARN (ácido ribonucleico) de las moléculas de clase I. Estas formas solubles son capaces de modular *in Vitro* la actividad de las células T (13). Se ha demostrado que estas formas solubles también se producen en la molécula B*27 y que su producción está incrementada en infecciones por *Salmonella* y *Yersinia*, aunque todavía no se conoce que importancia tiene este hecho en la persistencia de la infección.(14).

3.3 HLA-B*27 en el mundo

Estudios de genética familiar en población Europea indican que el HLA-B*27 contribuye con alrededor del 16% del riesgo genético total para la enfermedad, el resto del CMH (complejo mayor de histocompatibilidad) parece aportar al menos 50% de lo restante de tal predisposición (15,16).

En población turca, la presencia del HLA-B*2705 se encuentra tanto en pacientes con EA (71.1%) como en controles sanos (68%), lo mismo sucede con el B*2702 observado en el 26.3 y 32% respectivamente (17). En pacientes croatas se han reportado alelos B*2705 (83%) y B*2702 (21.1%) sin diferencias significativas entre la población sana y la portadora de EA (18).

Otro estudio llevado a cabo población griega, en enfermos y controles B*27 positivos, reportó sólo dos alelos en población enferma, B*2702 (26.2%) y B*2705 (73.8%). El alelo HLA-B*2707 (16.9%) se encontró en los controles sanos junto con B*2702 (51.7%) y B*2705 (31.7%), mostrando clínicamente que sólo un número restringido de alelos se asocian con la enfermedad. (19).

Un estudio más mostró que otros genes asociados a B*27 o sus alelos pudieran asociarse a la enfermedad, encontrando que el alelo D6S248-15 junto con HLA-A2404 pudieran ser marcadores independientes de susceptibilidad adicional para el desarrollo de EA (120).

3.4 HLA-B*27 en la población mexicana

Una tipificación de subtipos de HLA-B*27 mostró que la población mestiza Mexicana comparte alelos españoles caucásicos B*2705 y B*2702, lo cuales están ausentes en la zona central y del sur de América. Se ha encontrado también vinculación de arreglos del B27/Cw vistos en mestizos, los cuales son similares a los reportados en españoles con tres diferentes haplotipos positivamente asociados con EA en ambas poblaciones: B*2705/Cw*0102, B*2705/Cw02022 y B*2702/Cw*02022, sugiriendo que el B*27 en mexicanos puede ser debido a una mezcla caucasoide reciente con genes españoles (21).

3.5 HLA-B*27 y el desarrollo de la enfermedad

Recientemente se ha reportado en estudios familiares de pacientes con EA HLA-B*27 positivos, que existe una diferente distribución de hijos con EA dentro de la misma familia, mostrando que los hijos nacidos antes de los 30 años (edad materna al nacimiento) tienen alta frecuencia de padecer EA en relación a los nacidos posteriormente. Lo anterior sugiere una segregación por parte de la madre del material geonómico, predominando la EA en pacientes HLA-B*27 positivos del género masculino y con inicio infantil de la enfermedad (22).

3.6 Pronóstico

Numerosas medidas han sido desarrolladas para determinar el estatus de la enfermedad en la EA incluyendo la actividad de la enfermedad, la incapacidad funcional, la pérdida de la movilidad espinal y la expansión del tórax así como la calidad de vida. Todos estos instrumentos son rápidos, válidos y fáciles de administrar en la consulta externa como pruebas clínicas.

4. OBJETIVOS

Considerando lo anterior, los objetivos de este estudio son determinar la frecuencia y tipo de herencia (vía materna o paterna) de los distintos subtipos de HLA-B*27 en pacientes con Espondilitis Anquilosante del servicio de Reumatología del HE CMN siglo XXI así como correlacionar la presencia del HLA-B*27 y sus subtipos, el género del paciente, así como la edad materna y paterna al nacimiento del paciente con la edad de presentación y la severidad de la enfermedad.

5. JUSTIFICACIÓN

Hasta donde nosotros sabemos no existe algún estudio que describa la frecuencia de los alelos de HLA-B*27 en pacientes con EA y su vía de herencia (paterna o materna) en nuestra población (HE CMN Siglo XXI) o que intente correlacionar la edad de los progenitores al nacimiento del paciente, o el subtipo de HLA-B*27 evidenciado con la edad de inicio de la patología o su severidad.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio tiene un diseño observacional, transversal, retrospectivo y analítico. Se realizó en el servicio de Reumatología HE CMN siglo XXI y se consideró estudio piloto por lo que no se calculó tamaño de la muestra. Con la muestra obtenida (14 pacientes HLA-B*27 positivos) se logra un poder de 80% para detectar diferencias de 0.9 en cuanto a correlación, asumiendo que la hipótesis nula es que las variables no se correlacionan en lo absoluto, con alfa de 0.009.

Fueron elegibles para el estudio todos los pacientes que cumplieren criterios de clasificación para EA por los criterios Nueva York modificados (anexo 1) y que contasen con ambos padres vivos y disponibles para toma de muestras de sangre periférica y entrevista. Se excluyeron aquellos pacientes que no cumplieran los criterios de clasificación ya mencionados, o que no tuvieran ambos padres vivos y disponibles para el estudio. Los pacientes fueron elegibles indistintamente de su edad, género, edad de presentación, edad de los padres, patologías concomitantes o antecedentes heredofamiliares..

La información de los pacientes y sus progenitores se obtuvo a través de una entrevista (anexo 2) previo a la toma de muestras de sangre periférica.

La determinación de la presencia del HLA-B, tipos y subtipos se llevó a cabo a través de PCR-SSP (técnica de amplificación de reacción en cadena de polimerasa con iniciadores de secuencia específica, anexo 3), inicialmente de mediana resolución y posteriormente de alta resolución, si y sólo si se evidenció la presencia de HLA-B*27 en la primera técnica. Las muestras B-27 negativas sólo se procesaron hasta mediana resolución.

Se registraron los siguientes datos: nombre del paciente, género, edad actual, edad al momento del diagnóstico, edad de inicio de la sintomatología, edades de ambos padres en la actualidad y al momento del nacimiento del paciente, lugar de origen y residencia, presencia/ausencia de la enfermedad en cada uno de los padres, y tipo de HLA-B así subtipo de HLA-B*27 por alta resolución, en su caso, tanto del paciente como de sus padres.

Además se aplicó el cuestionario BASFI (Bath Ankylosing Spoldylitis Functional Index, anexo 4) a cada uno de los pacientes durante la entrevista y se registró

el puntaje final. Todos los pacientes contaron con consentimiento informado firmado (anexo5).

Para el análisis se utilizó estadística descriptiva con medidas de tendencia central y dispersión dependiendo del tipo de variable.

Para establecer asociaciones se utilizó *R de Spearman* en caso de variables ordinales y *correlación de Pearson* para las numéricas. Las diferencias entre grupos se obtuvieron mediante *Chi cuadrada* o *t de Student* acorde al caso, con nivel de confianza del 95%. Se consideró significativa $p \leq 0.05$

Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 14.0 para Window XP con el fin de lograr tales cálculos.

7. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio cumple con los 12 principios básicos de la declaración de Helsinki.

La investigación se apega estrictamente a las leyes mexicanas, específicamente a la ley general de salud en materia de investigación en su título quinto, además la realización de esta investigación estuvo supeditada a la aceptación de la misma por parte de las autoridades responsables del IMSS (PTR 023/2006).

8. RESULTADOS

Se examinaron 19 individuos de los cuales 13 fueron hombres (68.4%) y 6 mujeres (31.6%), con edades que oscilaron entre los 17 y los 48 años (media de 24.89 ± 7.64 años).

Catorce pacientes (73.7%) fueron HLA-B*27 positivos, once del género masculino (78.6%) y tres del femenino (21.4%), que oscilaron entre los 18 y los 48 años de edad, (media de 26.5 ± 7.5).

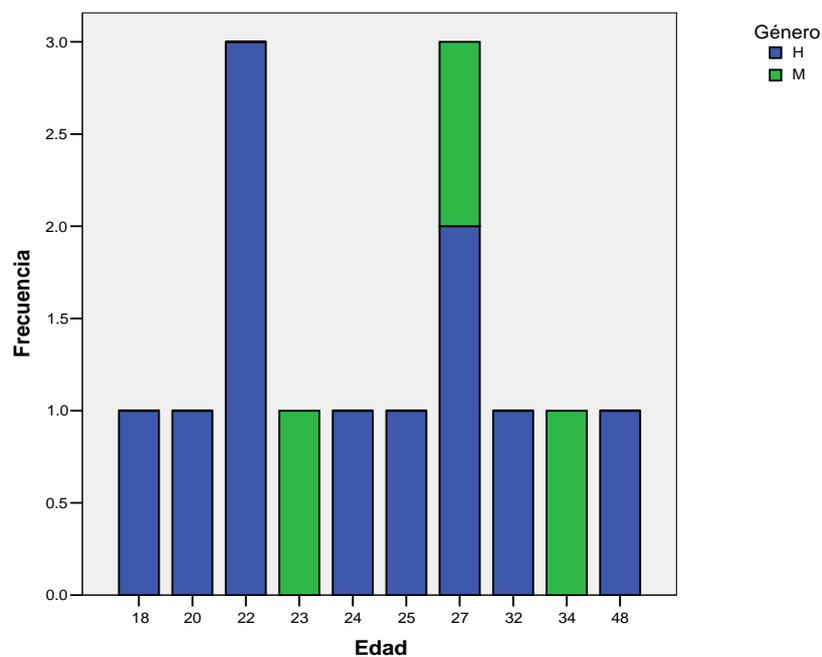
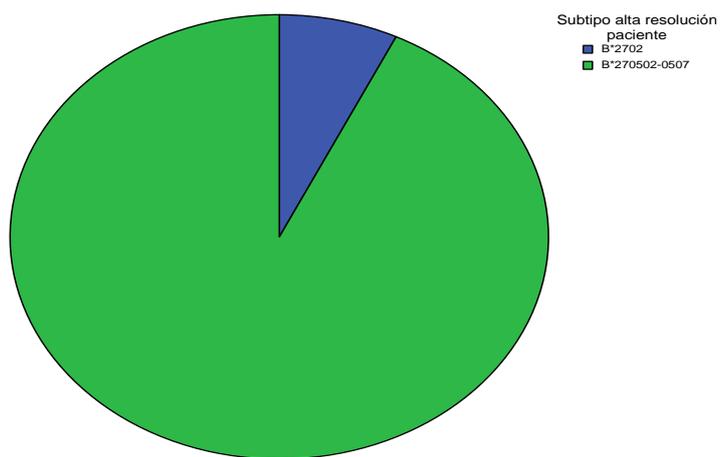


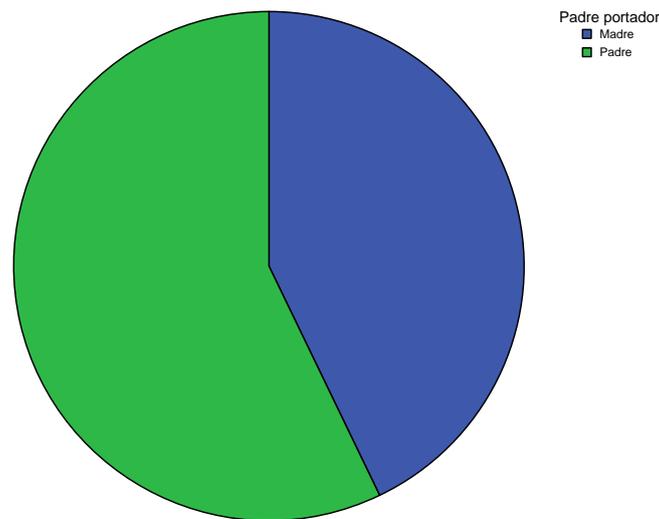
TABLA DE POBLACIÓN DE PACIENTES B*27 POSITIVOS

De éstos catorce, trece (92.9%) presentaron el subtipo B*270502-0507 y sólo uno (masculino de 18 años, heredado por vía paterna, 7.1%) el B*2702.



CASOS B*27 POSITIVOS POR SUBTIPO

En los casos B27 positivos, la molécula fue generalmente heredada por vía paterna (8 casos, 57.1%), la vía materna se presentó en los 6 casos restantes (42.9%). Ninguno de los progenitores es portador de la enfermedad.



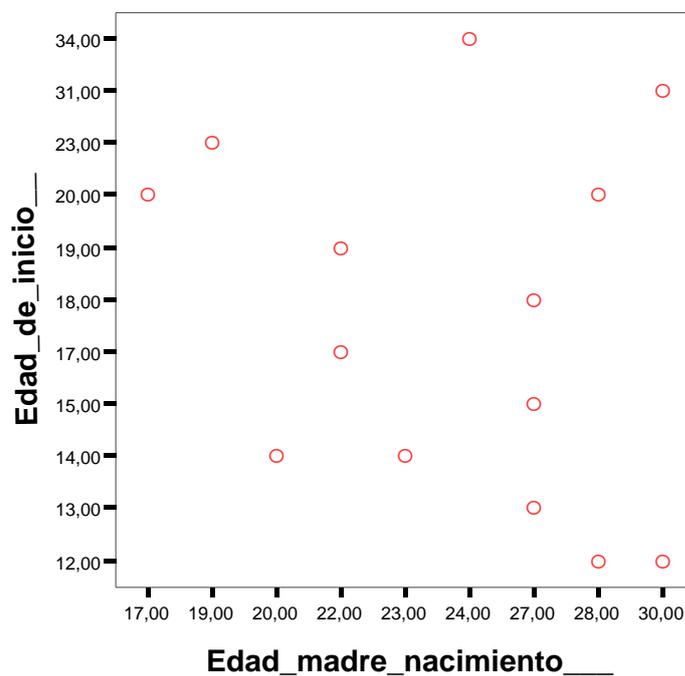
CASOS B*27 POSITIVOS POR VÍA DE HERENCIA

En cuanto a las características de la patología, la edad de inicio en los pacientes B*27 positivos fue de 18.71 ± 6.74 años, con puntajes de BASFI que oscilaron entre 1 y 7.5 (promedio de 3.06 ± 2.22). En relación a las características de los padres, la edad de la madre al nacimiento del paciente varió entre los 17 y los 30 años, con promedio de 24.7 ± 4.16 , la del padre al nacimiento fue de 27.28 ± 4.37 años (20 a 35 años).

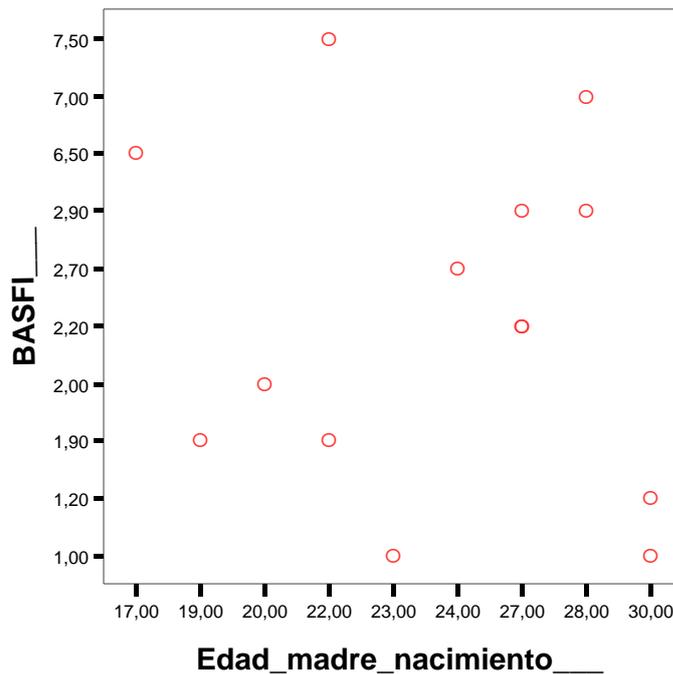
Se investigó la existencia de asociaciones entre la edad de la madre al nacimiento del paciente y la edad de inicio de la enfermedad así como su severidad por BASFI. También se investigó si existió correlación entre el

género del paciente y la severidad de la enfermedad o edad de inicio de la misma. No se encontró asociación alguna.

La correlación de Pearson para edad de la madre al nacimiento del paciente y edad de inicio de la patología fue de 0.062, aquella en relación a la edad de la madre al nacimiento del paciente y puntaje BASFI fue de 0.27. Tampoco hubo asociación entre la edad del padre al nacimiento y la edad de inicio (correlación de Pearson de 0.191) o la edad del padre al nacimiento del paciente y el puntaje de BASFI (correlación de Pearson de 0.078).



GRÁFICA DE DISPERSIÓN, EDAD DE INICIO CONTRA EDAD DE LA MADRE AL NACIMIENTO



GRÁFICA DE DISPERSIÓN, EDAD DE LA MADRE AL NACIMIENTO Y BASFI

Tampoco se evidenció asociación entre los subtipos de HLA-B*27 y la edad de inicio de la patología o el puntaje de BASFI . En todos los anteriores la p es significativa (< 0.05) para distinguir diferencia de 0.9 en cuanto a correlación, sin embargo la muestra resulta insuficiente para identificar diferencias más pequeñas.

Los 5 casos restantes fueron B*27 negativos (3 mujeres, 2 hombres). Estos 5 pacientes evidenciaron los subtipos siguientes: B*4801, B*3502/04/0901/0902, B*4002/27/29, B*15010101, B*151101/15, B*4002/27/29, B*390101/03-05/18, B*4801, B*1530 y B*4901. El más frecuentemente encontrado fue B*15 en 30%, seguido de B*40 y B*48 en 20% cada uno, y solo un caso con B*39.

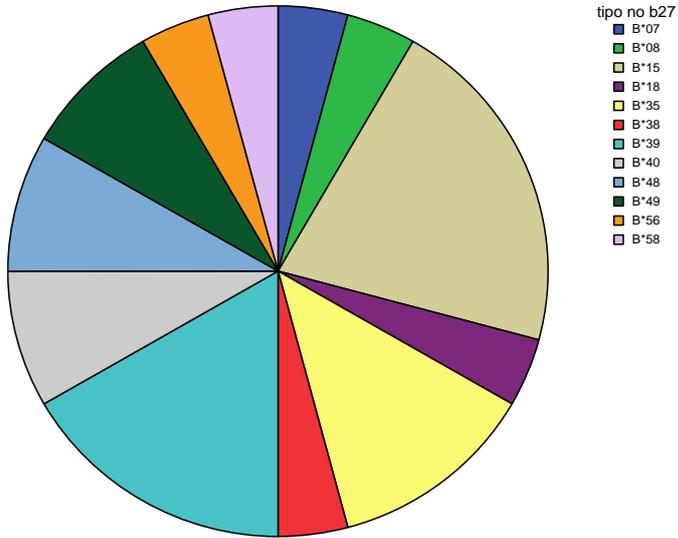
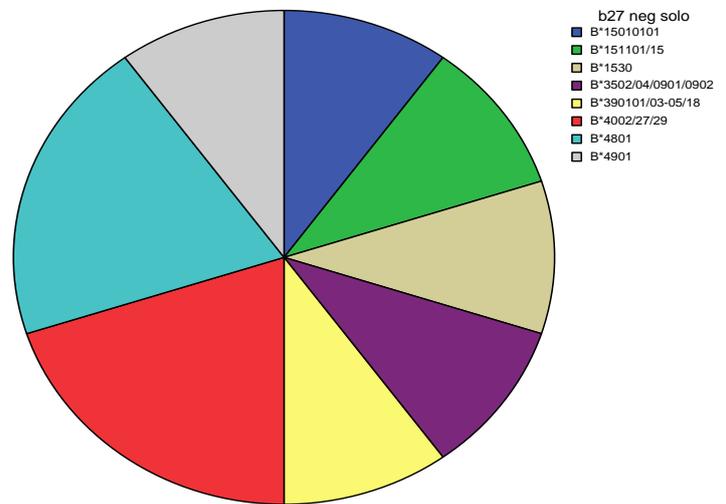
Si tomamos en cuenta todos los subtipos no-B27 evidenciados en el estudio, los más frecuentes fueron los B*15 positivos (sin considerar subtipos) con 5 casos que representan el 21%, de estos el subtipo B*15010101 fue el más frecuente (2 casos, 8.3% del total). El segundo grupo más frecuente fue el B*39 con 4 casos (16.6), siendo su subtipo más frecuente el B*390101/0103 (2

casos, 8.3%). Estos dos seguidos por B*35 (3 casos) y B*40, B*48 y B*49, cada uno con 2 casos. Se presentan a continuación gráficos por tipos y subtipos.

SUBTIPOS NO B*27 EVIDENCIADOS EN EL ESTUDIO

	Frecuencia	Porcentaje
Válidos B*070201-0204/04-06	1	4.2
B*0801/08N/18/19N/22	1	4.2
B*15010101	2	8.3
B*151101/15	1	4.2
B*1515	1	4.2
B*1530	1	4.2
B*180101/0102	1	4.2
B*3502/04/0901	1	4.2
B*3502/04/0901/0902	1	4.2
B*3513	1	4.2
B*3801/09/10	1	4.2
B*390101/0103-0105	1	4.2
B*390101/0103	2	8.3
B*390101/03-05/18	1	4.2
B*4002/27/29	2	8.3
B*4801	2	8.3
B*4901	2	8.3
B*5601	1	4.2
B*5801/04	1	4.2
Total	24	100.0

Subtipos de HLA-B en pacientes B-27 negativos



Subtipos no B-27 reportados en el estudio

9. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

El estudio sugiere que la población estudiada por EA en el servicio de Reumatología de HE CMN Siglo XXI presenta características similares a las ya descritas en otros estudios realizados en el país. La mayoría de nuestros pacientes con EA son del género masculino (68.4%) , con una relación cercana a 7:3 comparado con el género femenino.

En cuanto al progenitor portador de la molécula HLA-B*27, en los casos positivos, la proporción entre madre y padre es muy parecida, sin haberse evidenciado enfermedad en ninguno de los progenitores participantes.

La distribución de subtipos de HLA-B*27 evidencia predominancia del HLA B*2705 (92.9%) en relación al B*2702. Llama la atención la proporción que estos dos subtipos guardan. Se ha reportado que generalmente el subtipo B*2702 representa alrededor del 30% de los casos de EA B*27 positivos, sin embargo en nuestro estudio su frecuencia es considerablemente menor con sólo 7.1%. Tal distribución está posiblemente asociada con las características étnicas de la población mexicana, ya que el subtipo 02 es más frecuente en población de origen arábico y judío así como noreuropeo.

En cuanto a la posibilidad de asociaciones entre la edad materna al nacimiento, el género del paciente, el subtipo de HLA-B*27 y la edad de inicio de la enfermedad así como su severidad, ninguna se corroboró. De hecho, los índices de correlación son más bien sugerentes de que NO existen tales asociaciones en nuestro medio. Sin embargo, habrá que considerar que el presente estudio es sólo un estudio piloto, y que con el fin de distinguir entre diferencias más pequeñas se requieren de muestras poblacionales más numerosas.

En cuanto a los casos B*27 negativos, nuestro estudio resulta consistente con estudios previamente realizados donde el tipo de HLA-B más frecuentemente encontrado en pacientes mestizos mexicanos con EA B*27 negativos ha sido el HLA-B*15 . Existen reportes consistentes con la idea de que este subtipo es frecuente en pacientes mexicanos con espondiloartropatías aunque aún no hay una asociación propiamente descrita (24).

Cuando se tomaron en cuenta todos los tipos de HLA-B reportados en el estudio, independientemente de si coexistían con B*27 o no, se encontró la presencia de B*39 y B*40 también.. Ambos reportados de manera frecuente en casos de espondiloartropatía B*27 negativa alrededor del mundo.

Parece pues que nuestra población difiere en relación a otras publicadas en el hecho de que el subtipo B*2702 resulta menos frecuente y en la presencia predominante de B*15 en pacientes B*27 negativos. Requieren ambos hallazgos de mayor estudio y de poblaciones más extensas con el fin de determinar su importancia.

En cuanto a las asociaciones, no fue posible determinarlas con significancia estadística dado que no se cuenta con el tamaño de muestra apropiado, sin embargo los índices de correlación que se calcularon no evidenciaron asociación alguna.

10. CONCLUSIONES

Concluimos pues que en nuestro estudio la mayoría de los pacientes con EA HLA-B*27 positivos son del género masculino. El subtipo más reportado es el B*2705, sin haber alguna diferencia en cuanto a la vía de herencia. Sólo se reportó un caso de HLA-B*2702.

No se encontraron asociaciones entre el género del paciente, subtipo de HLA-B*27 evidenciado o edad de la madre al nacimiento con la severidad de la enfermedad por BASFI o la edad de inicio.

En cuanto a los casos B*27 negativos, el HLA-B más frecuentemente reportado fue el B*15, siendo importantes también B*39 y B*40.

11. RECOMENDACIONES

El tópico requiere de más estudio en la población mexicana. Existen sólo pocos estudios que hablen de los subtipos de HLA-B*27 más prevalentes en nuestro medio. También se ha hecho poco énfasis en la frecuencia, tan importante, de HLA-B*15 en pacientes mexicanos con espondiloartropatías B*27 negativas, tanto que aún no existe una asociación propiamente descrita.

Se requiere de estudios que incluyan un mayor número de casos para lograr estas descripciones de forma adecuada.

En cuanto a las asociaciones sugeridas, el escaso número de pacientes estudiados no permitió mostrar alguna asociación con la edad de inicio o severidad de la enfermedad, lo que no descarta que estas existan al incluir un mayor número de pacientes.

12. ANEXOS

Anexo 1

Tabla 1. Criterios de Nueva York para la Espondilitis Anquilosante

Los requerimientos mínimos para estudios de población son:

1. Radiografía AP de pelvis.
2. Examen clínico de espalda y tórax.

Criterios radiológicos de sacroiliitis

Graduación radiológica.

Grado 0 = normal

Grado 1 = sospechoso

Grado 2.= anormal con erosiones o esclerosis

Grado 3 = inequívocamente anormal, sacroiliitis moderada o avanzada que muestra uno o mas de los siguientes puntos: erosiones, esclerosis, ensanchamiento, estrechamiento, anquilosis parcial.

Grado 4 = Anquilosis total.

Criterios clínicos:

1. Limitación de movimientos de la columna en tres planos: flexión anterior, flexión lateral y extensión.
 2. Antecedente o presencia de dolor en la unión lumbosacra o en la columna lumbar.
 3. Expansión torácica disminuida, de una pulgada o menor (medida en el cuarto espacio intercostal).
-

Bennett PH, Burch TA. New York Symposium on population studies in the rheumatic diseases: new diagnostic criteria. Bull Rheum Dis 1967;17:453-458

Anexo 2

Hoja de recolección de datos.

Nombre												
Número							Edad					
Sexo	M		H		Edad al Dx	< 15	> 45?		15-45?			
Originario						Residente						
Historia familiar de enfermedad reumatologica						Si		No				
Edad de inicio de los síntomas:												
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE HERENCIA												
	positivo	Negativ o	Subtipo predominante	Presencia de enfermedad								
Madre												
Padre												
SEGUIMIENTO												
Seguimiento		Años		Tratamiento								
Otras enf. reumatológicas asociadas												
HLA /SUBTIPO EN EL PACIENTE												
Comentarios.												

Datos de los padres.

Edad materna actual:

Edad materna al nacimiento:

Edad paterna actual:

Edad paterna al nacimiento:

AHF maternos de importancia:

AHF paternos de importancia:

Anexo 3

Determinación de HLA B27 y subtipos.

La determinación de los subtipos de HLA B27 se realizará a través de la técnica de amplificación de PCR con iniciadores de secuencia específica (PCR-SSP) que está diseñada para proveer baja, mediana y alta resolución de las varias clases de HLA tipo I y II.

Los antígenos de HLA se determinan por microlinfocitotoxicidad utilizando antisueros comerciales. El DNA geonómico se obtiene a partir de una muestra de sangre periférica, anticoagulada con EDTA o ACD, la cual es tratada con lisantes de glóbulos rojos y blancos, con la finalidad de liberar el DNA del núcleo de las células.

La mezcla de iniciadores está comercialmente disponibles en placas con número de pozos variable, éstos iniciadores se encuentran debidamente estandarizados (22).

10. Realizar un día completo de actividades, ya sea en casa o en el trabajo

Fácil Imposible _____

Total _____

Cuestionario de BASFI: interpretación: Cada pregunta se contesta en escala de 1 al 10. La puntuación individual se suma y posteriormente se convierte a escala de 0 al 10, para obtener la calificación de BASFI. El cuestionario tarda en ser contestado en su totalidad: 100 segundos.

[Calin A](#), [Garrett S](#), [Whitelock H](#), [Kennedy LG](#), [O'Hea J](#), [Mallorie P](#), [Jenkinson T](#). A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index. [J Rheumatol](#). 1994 Dec;21(12):2281-5.

Anexo 5

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

México, D.F. a _____

Por medio del presente, (nombre) _____ acepto participar en el proyecto de investigación: **“HERENCIA DE SUBTIPO DE HLA-B27 Y ALELOS EN FAMILIAS DE PACIENTES CON ESPONDILITIS ANQUILOSANTE B27+ Y SU RELACIÓN CON EL GENERO DEL HIJO(A) , LA EDAD DE INICIO Y LA SEVERIDAD DE LA ENFERMEDAD”**, registrado ante el Comité Local de Investigación del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, con el número _____. El objetivo de este estudio es identificar la predisposición genética para el padecimiento de Espondilitis Anquilosante.

Se me ha explicado que mi participación en la investigación consiste en autorizar que se me tomen muestras de sangre. Declaro que se me ha informado ampliamente que los riesgos e inconvenientes adicionales que representa el estudio son mínimos: dolor, inflamación o moretón en el sitio de punción en la toma de muestra. Entiendo que no existe un beneficio personal inmediato, pero el resultado del estudio puede ser un adelanto científico que mejore y simplifique el diagnóstico de individuos a riesgo del desarrollo de esta enfermedad.

Manifiesto que mi participación es voluntaria, sin remuneración económica y entiendo que conservo el derecho negarme a participar en el estudio o retirarme del mismo, sin que ello afecte la atención médica mía en caso de ser el paciente y/o de mi familiar que recibe atención en el Instituto.

El investigador principal me ha asegurado que mis datos serán manejados en forma confidencial en las presentaciones o publicaciones de este estudio y que en todo momento se respetará mi privacidad.

Nombre y firma del paciente

Investigador

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo

Anexo 6

Cronograma e actividades.

2005				2006												2007		
Revisión de la literatura																		
Revisión protocolo																		
Comité de ética																		
				Captura de pacientes														
				Recolección de muestras														
				HLA B27 y subtipos, HLA DR														
																	Análisis de resultados	
																	Publicación	

13. BIBLIOGRAFÍA

1. Harris: Kelley's Textbook of Rheumatology, 7th ed
2. Khan, MA y cols. Ankylosing spondylitis: Clinical features. Rheumatology, 1st edition, London: Mosby-Volfe, 1994, 325.
3. Feltkamp TEW, Khan MA, De Castro JAL. The pathogenic role of HLA-B*27. Immunol Today 1996; 7: 1-5.
4. Khan MA. Update: the twenty subtypes of HLA-B27. Curr Opin Rheumatol 2000; 12: 235-238
5. Álvarez I, López de Castro JA. HLA-B27 and immunogenetics of spondyloarthropathies 2000; 12: 248-253.
6. Galocha B, Lamas JR, Villadangos JA, Albar JP, López de Castro JA. Binding of peptides naturally presented by HLA-B27 to the differentially disease-associated B*2704 and B*2706 subtypes, and to mutants mimicking their polymorphismo. Tissue Antigens 1996; 48: 509-518.
7. García F, Marina A, López de Castro JA. Lack of carboxyl-terminal tyrosine distinguishes the B*2706-bound peptide repertoire from those of B*2704 and other HLA-B27 sybtypes asociated with ankylosing spondylitis. Tissue Antigens 1997; 49: 215-221.
8. Fiorillo MT, Meadows L, D'Amato M, Shabanowitz J, Hunt DF, Apella E, Sorrentino R. Susceptibility to ankylosing spondylitis co9rrelates with the C-terminal residue of peptides presente by various HLA-B27 subtypes. Eur J Immunol 1997; 27: 368-373.
9. López-Larrea C, Gonzàlez-Roces S, Álvarez V. HLA-B27 structure, function, and disease association. Curr Opin Rheumatol 1996; 8:296-308.
10. García F, Marina A, Albar JP, López de Castro JA. HLA-B27 presents a pepetide from a polymorphic region of its own molecule with homology to proteins from arthritogenic bacteria. Tissue Antigens 1997; 49: 23-28.
11. Wuorela M, Jalkanene S, Kirveskai J, Laitio P, Granfords K. Yersinia enterocolitica Serotype O:3 alters the Expressiòn of Serologic HLA-B27 Epitopes on Human Monocytes. Infect and Immun 1997; 65: 2060-2066.

12. Latio P, Vrtala M, Salmi M, Pelliniemi U, Yu DTY, Granfors K. HLA-B27 modulates intracellular survival of *Salmonella enteritidis* in human monocytic cells. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1331-1338.
13. Buelow R, Burlingham WJ, Clayberger C. Immunomodulation by soluble HLA class I. *Transplantation* 1995; 59: 649-654.
14. Huang F, Yamaguchi A, Tsuchiya N, Ikawa T, Taumra N, Vrtala MMK, Granfors K, Yasei P, Yu DTY. Induction of alternative splicing of HLA-B27 by bacterial invasion. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 694-703.
15. Khan MA, Ball EJ. Genetic aspects of ankylosing spondylitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2002 Sep; 16 (4): 675-90
16. Thorsby E, Lie BA. HLA associated genetic predisposition to autoimmune diseases: Genes involved and possible mechanisms. *Transpl Immunol*. 2005 Aug; 14 (3-4): 175-82
17. Birinci A, Bilgici A, Kuru O, Durupinar B. HLA-B*27 polymorphism in Turkish patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int*. 2005. Jul 20
18. Grubic Z, Kerhin-Brkljacic V, Peric P, Cecuk E, Kastelan A. Variation in HLA-B*27 gene subtypes and susceptibility of ankylosing spondylitis in the Croatian population. *Reumatizam*. 2001; 48 (1): 7-11
19. Varnavidou-Nicolaidou A, Karpasitou K, Georgiou D y cols. HLA-B*27 in the Greek Crete population: distribution of subtypes in patients with ankylosing spondylitis and other HLA-B*27 related diseases. The possible protective role of B*2707, *Hum Immunol*. 2004. Dec; 65 (12) 1451-4.
20. De Juan M, Reta A, Belzunegui J y cols. HLA-A*2402 and microsatellite (D6S248) are secondary independent susceptibility markers to ankylosing spondylitis in Basque patients. *Hum Immunol* 2004. Feb; 65 (2): 175-80
21. López-Larrea C, González-Roces S, Pena M, Domínguez O, Coto E, Álvarez V, Moreno M, Hernández O, Burgos-Vargas R, Gorodezky C. Characterization of B27 haplotypes by oligotyping and genomic sequencing in the Mexican mestizo population with ankylosing spondylitis: juvenile and adult onset. *Hum Immunol*. 1995 Jul; 43 (3): 174-80

22. Jiménez-Balderas FJ, Zonana-Nachach A, Sánchez MI, Et al. Maternal age and family history are risk factors for ankylosing spondylitis. *J Rheumatology* (10): 2182-2185 Oct 2003.
23. Olerup OI, and Zetterquist, H. HLA DR typing by PCR amplification with sequence specific primer (PCR-SSP) in 2 hours: An alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantations. *Tissue Antigens* V. 39:225-235., 1992.
24. Silva-Ramírez B, Vargas-Alarcón G, Granados J, Burgos-Vargas R. HLA antigens and juvenile onset spondyloarthritides: negative association with non-B27 alleles. *Clin Exp Rheumatol.* 23(5): 721-3