



Facultad de Estudios Superiores  
**IZTACALA**

**Universidad Nacional Autónoma de México**  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala  
Biología

**Expresión del receptor IGFR-1 en leucocitos de  
pacientes con espondiloartritis**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
BIÓLOGA**

Presenta  
Nayeli Romero López

Director de tesis: Dr. José Pablo Romero López

Comité asesor:  
Dra. María Lilia Domínguez López  
Dr. José Bustos Arriaga  
Dra. Leticia Moreno Fierros  
Biol. Yabín Josué Castro Camacho

Febrero, 2024  
Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## Apoyos económicos y aprobación del proyecto.

Este proyecto fue financiado por el proyecto PAPIIT IA206822 (DGAPA-UNAM) y el proyecto SIP 20231529 (SIP-IPN).

Este proyecto fue aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México con el número de folio 0146 y por el comité de bioética del Hospital General de México con la clave de aprobación DI/23/404-A/0410

## Agradecimientos

- Al Dr. Rubén Burgos Vargas por darme la confianza y la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo.
- A la Dra. María Lilia Domínguez López por abrirme las puertas a su laboratorio y siempre apoyarme para que todo saliera bien.
- Al Dr. José Pablo Romero López por ser el frente del spondylo-team, enseñarnos el maravilloso mundo de la inmunología, impulsarnos a confiar en nuestro trabajo y personalmente por siempre motivarme a hacer todo mejor.
- Al Dr. Julio Cesar Casasola Vargas por abrirnos las puertas a su consultorio y facilitarnos la obtención de muestras.
- A la M. en C. Jessica Lakshmi Prieto Chávez por permitirme hacer uso del citómetro aurora para analizar mis muestras, por el apoyo en el análisis de mis resultados y por lo aprendido en buenas prácticas de citometría.
- A mis compañeros del laboratorio la cDra. Ingrid Itzayanna Ortega Mejía, el M. en C. Brian de Jesús Bernal Alférez, el M. en C. Rafael Gómez Mosqueira, la M. en C. Graciela Teresa Ortega Tapia, la M. en C. Karla Jimena Basilio Aguilar, los médicos Mauricio Villaseñor García y Samantha Sánchez Pérez, Lasha Ludmila Mojica Villa y al Biólogo Héctor Adán Romero García por apoyarme con la obtención de las muestras, por enseñarme mis primeros pasos en el laboratorio, por confiar en mí y hacer de este largo proceso algo tan bonito.

## Dedicatoria

Dedico esta tesis a los responsables de mi existencia, mis papas Yolanda y Armando, porque a pesar de todas las adversidades que la vida les ha puesto, han logrado sacarnos adelante y demostrarnos que con amor y mucho trabajo todo es posible, sin ustedes nada de esto sería realidad.

A mis hermanos Ángel y Pablo, por siempre ser mi más grande ejemplo de perseverancia, por siempre apoyarme a lograr mis metas, por impulsarme a siempre hacer todo lo mejor y ser los mejores amigos que pude haber elegido, mis logros son también suyos.

A mis hermanas de otra madre, Julia, Karla y Karen, por siempre estar para mí, por ser mi red de apoyo, por escucharme todas las veces que les hablo de lo que hago y aunque no siempre me entienden, siempre están completamente dispuestas a ayudarme.

A Adán, por apoyarme y acompañarme en este largo y difícil proceso, por siempre sacarme de mi zona de confort, por ser las manos que limpian mis lágrimas y por ser la voz en mi cabeza que me recuerda que soy capaz de todo, confiar en uno mismo es contagioso.

A mi ángel en el cielo, mi tía Gude, por ser la primera en confiar en que podría ser una gran bióloga algún día.

<b>Índice</b>	
<b>Índice de figuras</b> .....	<b>5</b>
<b>Índice de tablas</b> .....	<b>5</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>6</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>8</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>9</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>10</b>
<i>Espondiloartritis</i> .....	10
<i>Espondiloartritis de inicio juvenil</i> .....	10
<i>Herramientas para la evaluación de las SpA</i> .....	11
<i>Etiopatogenesis</i> .....	12
<i>Vías moleculares asociadas al crecimiento óseo</i> .....	13
<i>Papel de las hormonas en la patogenia de la SpA</i> .....	15
<b>Planteamiento del problema</b> .....	<b>17</b>
<b>Justificación</b> .....	<b>18</b>
<b>Hipótesis</b> .....	<b>18</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>18</b>
General .....	18
Particulares.....	18
<b>Materiales y métodos</b> .....	<b>18</b>
1) Tipo de estudio .....	18
2) Población y tamaño de la muestra: .....	19
3) Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	19
4) Clasificación de los pacientes y controles.....	19
5) Variables a evaluar: .....	20
6) Procedimiento .....	20
7) Evaluación clínica: .....	20
8) Obtención de las muestras sanguíneas.....	21
9) Procesamiento de las muestras sanguíneas.....	21
10) Análisis de datos .....	22
Aspectos de ética y bioseguridad .....	<b>22</b>
<b>Resultados</b> .....	<b>23</b>
<b>Discusión</b> .....	<b>31</b>
<b>Conclusiones</b> .....	<b>33</b>
<b>Referencias</b> .....	<b>34</b>

### Índice de figuras

**Figura 1.** Algoritmo de análisis por citometría de flujo espectral para el análisis de sangre de pacientes y controles. A través de un algoritmo supervisado se realizó una gráfica de puntos de la cual se seleccionaron los linfocitos y granulocitos (A), así mismo se seleccionó una gráfica de puntos donde se seleccionaron a los granulocitos IGFR-1+ (B), se seleccionó una gráfica de puntos donde se seleccionaron a linfocitos NK y NKT + (C). Además se analizó la población de linfocitos NKT IGFR1+ (D), la población de Linfocitos NK IGFR1+ (E), la población de los linfocitos T (F), y la población de Linfocitos T que expresan IGFR-1+ (G) Población de linfocitos T CD4+ (H), y así mismo los Linfocitos T CD4 IGFR1+ (I), la población de Linfocitos T CD8+ (J) y de la misma manera a los Linfocitos T CD8 IGFR1+(K), se seleccionó a la Población de linfocitos T $\gamma\delta$ + (L) y finalmente a los Linfocitos T $\gamma\delta$  IGFR1+ (M). ..... 25

**Figura 2.** Intensidad media de fluorescencia de IGFR-1 en las poblaciones celulares estudiadas, mostrando la comparación de controles con pacientes, A) Granulocitos IGFR1+ , B) NKT IGFR1+, C) NK IGFR1+, D) Linfocitos T IGFR1+, E) Linfocitos T CD4+, F) Linfocitos T CD8+ ,G) T $\gamma\delta$  IGFR1+. ..... 26

**Figura 3.** Intensidad mediana de fluorescencia de IGFR-1 en las poblaciones de estudio, comparando controles con pacientes, A) Granulocitos IGFR1+, B) NKT IGFR1+, C) NK IGFR1+, D) Linfocitos T IGFR1+, E) Linfocitos T CD4+, F) Linfocitos T CD8+, G) T $\gamma\delta$  IGFR1+..... 27

**Figura 4.** Porcentaje de células IGFR1+ en las poblaciones de: A) Granulocitos B) NKT C) NK D) Linfocitos T E) Linfocitos T CD4+ F) Linfocitos T CD8+ G) Linfocitos T $\gamma\delta$ ..... 28

**Figura 5.** Comparación entre población CD4+ IGFR1+ en liquido sinovial y sangre periférica de un paciente contra un control. .... 29

**Figura 6.** Correlación de Spearman. En el eje de las Y se encuentra la intensidad media de fluorescencia de IGFR-1 en linfocitos T y en el eje de X los meses de evolución de la enfermedad..... 30

### Índice de tablas

**Tabla 1.** Datos demográficos y clínicos de pacientes con SpA y testigos. Datos obtenidos de 9 pacientes y 9 testigos sanos, donde; se muestran las medias de los valores  $\pm$  desviación estandar, NA = no aplica..... 23

**Tabla 2.** Cantidad de anticuerpo seleccionada. .... 24

## Abreviaturas

ASDAS:	Puntuación de actividad de la enfermedad de espondilitis anquilosante	<i>Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score</i>
axSpA:	Espondiloartritis axial	<i>Axial spondyloarthritis</i>
BASDAI:	Índice de actividad de la enfermedad de espondilitis anquilosante de Bath	<i>Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index</i>
BASFI:	Índice Funcional de Espondilitis Anquilosante de Bath	<i>Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index</i>
BMP:	Proteína Morfogénica Ósea	<i>Bone Morphogenic Protein</i>
DKK1:	Dickkopf-1	
EA:	Espondilitis Anquilosante	<i>Ankylosing Spondylitis</i>
ERA:	Artritis Relacionada con Entesitis	<i>Enthesitis Related Arthritis</i>
FGF:	Factor de Crecimiento de Fibroblastos	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
GH:	Hormona del Crecimiento	<i>Growth Hormone</i>
hCG:	Hormona Gonadotropina Coriónica Humana	<i>Human Chorionic Gonadotropin Hormone</i>
IGFBP-4:	Proteína 4 de Unión al Factor de Crecimiento semejante a la Insulina	<i>Insulin Growth Factor binding Protein-4</i>
IMF:	Intensidad Media de Fluorescencia	<i>Average Fluorescence Intensity</i>
JoSpA:	Espondiloartritis de Inicio Juvenil	<i>Juvenile Onset Spondyloarthritis</i>
LS:	Líquido Sinovial	<i>Synovial fluid</i>
NK:	Asesina Natural	<i>Natural Killer</i>
OPG:	Osteoprotegerina	<i>Osteoprotegerin</i>
PCR:	Proteína C reactiva	<i>C-reactive protein</i>
pSpA:	Espondiloartritis periférica	<i>Peripheral spondyloarthritis</i>
RANKL:	Activador del Receptor del Ligando del Factor Nuclear $\kappa$ B	<i>Nuclear Factor <math>\kappa</math>B Ligand Receptor Activator</i>

r-axSpA:	Espondiloartritis radiográfica	<i>Radiographic spondyloarthritis</i>
SpA:	Espondiloartritis	<i>Spondyloarthritis</i>
TA:	Tarsitis Anquilosante	<i>Ankylosing tarsitis</i>
TCF/LEF	Familia de factor de células T/ Factor Potenciador Linfoide	<i>T cell factor/lymphoid enhancer factor family</i>
VSG:	Velocidad de Sedimentación Globular	<i>Globular Sedimentation Rate</i>
Wnt:	Proteínas sin alas	Wingless Proteins



## Resumen

**Introducción:** Se denomina como espondiloartritis (SpA) a un grupo de enfermedades reumáticas, auto inflamatorias y crónicas de origen desconocido que afectan a 0.6% de la población mexicana, el proceso inflamatorio se localiza en las entesis y la membrana sinovial de las articulaciones, los pacientes que padecen estas enfermedades desarrollan puentes óseos. A diferencia de la SpA de inicio adulto, los pacientes que presentan síntomas antes de los 16 años (SpA juvenil o JoSpA) rara vez muestran afección axial y presentan formas más graves de la enfermedad. Tomando en cuenta que la SpA de inicio juvenil podría estar relacionada con los factores de crecimiento óseo asociados a la infancia y adolescencia, resulta interesante evaluar el papel del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) en la respuesta inflamatoria característica de la enfermedad. La señalización del receptor para IGF-1 (IGFR-1) contribuye a la inflamación dependiente de células T en otros tipos de artritis inflamatoria, es capaz de favorecer un cambio fenotípico en las células T hacia un perfil Th17 (con inhibición del perfil anti-inflamatorio de células Treg).

Factores de crecimiento como IGF-1 e IGFR-1 pueden estar relacionados con la inflamación y osteoproliferación características de la SpA.

**Métodos:** Se realizó un estudio usando muestras de pacientes con espondiloartritis, para ello, se incluyeron a 9 pacientes con SpA clasificados de acuerdo con los criterios de ASAS que fueran atendidos en el Hospital General de México. Se registraron las variables clínicas de edad, tiempo de evolución, ASDAS, PCR, VSG y BASDAI y se tomaron muestras sanguíneas de 10 mL. Mediante citometría de flujo espectral de sangre total, se analizaron las frecuencias de granulocitos, linfocitos totales, linfocitos NK, NKT,  $T\gamma\delta$ , linfocitos T CD4+ y CD8+, además, se midió la expresión de IGFR-1 en las poblaciones de estudio y la frecuencia de células IGFR-1+. Estos valores fueron comparados con muestras de sujetos sanos y correlacionados con las variables clínicas descritas.

**Resultados:** Encontramos diferencia significativa en la expresión de IGFR-1 en los linfocitos T CD4+ de pacientes y controles ( $p= 0.0391$ ), además, un aumento significativo del porcentaje de células T positivas a IGFR-1 ( $p=0.0413$ ). Encontramos correlación negativa del tiempo de evolución con la expresión de IGFR-1 en linfocitos totales.

**Conclusiones:** La alta expresión de IGFR-1 en linfocitos CD4+ y la alta frecuencia de linfocitos totales positivos a IGFR-1 indica una alteración de esta vía en los pacientes, lo que se podría relacionar con un papel de IGFR-1 en la inflamación mediada por células T.

## **Abstract**

**Introduction:** Spondyloarthritis (SpA) is a group of rheumatic, auto-inflammatory and chronic diseases of unknown origin that affect 0.6% of the Mexican population, in which the inflammatory process is located in the entheses and the synovial membrane of the joints, where patients who suffer from it develop bone bridges. In contrast to adult-onset spondyloarthritis (SpA), patients who (juvenile SpA or JoSpA) rarely show axial involvement and present with more severe forms of the disease. Considering that juvenile-onset SpA could be related to bone growth factors associated with childhood and adolescence, it is interesting to assess the role of insulin-like growth factor type 1 (IGF-1) in the inflammatory response of SpA. The IGF-1 receptor (IGFR-1) signaling contributes to the T-cell-dependent inflammation in other types of inflammatory arthritis, it is capable of promoting a phenotypic shift in T cells towards a Th17 profile (with inhibition of the anti-inflammatory profile of Treg cells).

Growth factors such as IGF-1 and IGFR-1 may be related to inflammation and osteoproliferation characteristic of SpA.

**Methods:** Nine patients with SpA classified according to ASAS criteria and attended at the General Hospital of Mexico were included. The clinical variables of age, evolution time, ASDAS, CRP, ESR and BASDAI were registered and 10 mL blood samples were taken. Using whole blood spectral flow cytometry, the frequencies of granulocytes, total lymphocytes, NK, NKT,  $T\gamma\delta$  lymphocytes, CD4+ and CD8+ T lymphocytes were analyzed, in addition, the expression of IGFR-1 in the studied populations and the frequency of IGFR-1+ cells were measured. These values were compared with samples from healthy subjects and correlated with the clinical variables described.

**Results:** We found a significant difference in IGFR-1 expression in CD4+ T lymphocytes of patients and controls ( $p=0.0391$ ), as well as, a significant increase in the percentage of total IGFR-1 positive lymphocytes ( $p=0.0413$ ). We found a negative correlation of evolution time with IGFR-1 expression in total lymphocytes.

**Conclusions:** The high expression of IGFR-1 in CD4+ lymphocytes and the high frequency of IGFR-1-positive total lymphocytes indicates an alteration of this pathway in patients, which could be related to a role of IGFR-1 in T-cell-mediated inflammation.

## Introducción

### *Espndiloartritis*

Se denomina como espondiloartritis (SpA) a un grupo de enfermedades reumáticas, autoinflamatorias y crónicas de origen desconocido que afectan al 0.6% de la población mexicana (Peláez-Ballestas *et al.*, 2013), en las cuales el proceso inflamatorio se localiza en las entesis (sitio de unión de un tendón, ligamento o fascia muscular a la superficie del hueso) y las articulaciones (Ball, 1971). Actualmente la clasificación de las SpA las divide en 2 grupos, la espondiloartritis axial (axSpA) y periférica (pSpA) (Rudwaleit, Landewé, *et al.*, 2009; Rudwaleit, Van Der Heijde, *et al.*, 2009), dentro de esta clasificación se incluye a la artritis psoriásica, artritis relacionada con enfermedad inflamatoria intestinal, artritis reactiva, entesitis relacionada a artritis y la espondilitis anquilosante (EA). La forma más grave es la EA que se caracteriza por inflamación y anquilosis articular (disminución o imposibilidad de movimiento en una articulación). En la clasificación de la SpA, la EA corresponde a la espondiloartritis axial radiográfica (r-axSpA) (Dougados and Baeten, 2011) y se caracteriza por la inflamación y formación de hueso en sitios de entesis del esqueleto axial y periférico. Además, en los pacientes con SpA se ha asociado el dolor crónico, deterioro funcional y discapacidad a la fusión espinal, el desarrollo de sindesmofitos (osificaciones heterotópicas dentro de un ligamento espinal o del anillo fibroso del disco intervertebral) y entesofitos (proyecciones óseas que se observan en sitios de inserción ósea de ligamentos, tendones o cápsula articular) (Vargas-Valverde, 2018).

### *Espndiloartritis de inicio juvenil*

Por lo general, los síntomas de la SpA comienzan en la tercera o cuarta década de la vida, sin embargo, cerca de un 10% a 20% de los pacientes en realidad experimentan síntomas en su infancia, afectando articulaciones, ojos, intestino, piel, corazón y pulmón (Burgos-Vargas, 2002; Sudoł-Szopińska *et al.*, 2017). A diferencia de la SpA en adultos que normalmente tienen afectación de la columna vertebral y las articulaciones sacroiliacas, los pacientes que presentan síntomas antes de los 16 años (SpA juvenil o JoSpA) rara vez muestran afección axial (Burgos-Vargas, 2002). Algunos de los sitios afectados son: las inserciones tendinosas de la fascia plantar (87,9%), el tendón de Aquiles (81,8%), el tobillo (87,9%) y la rodilla (72,7%) (Burgos-Vargas, Pacheco-Tena and Vázquez-Mellado, 2002). Una de las afecciones más graves en la JoSpA es la de los pies, al inicio, se presenta artritis y entesitis en las extremidades inferiores, que incluye la fusión de los huesos del tarso, a esto se conoce como tarsitis anquilosante (TA) (Burgos-Vargas, 2002). En este sentido, la TA es una manifestación clínica importante en adolescentes y adultos jóvenes, en la cual se presenta artritis de miembros inferiores y entesitis, combinada con síntomas axiales en menos de 20%. Los pacientes padecen dolor

en el pie, edema de tobillos, inflamación de la fascia plantar y entesitis del tendón de Aquiles (Burgos-Vargas, 2002).

La TA, se define como una anquilosis tibiotarsal, intertarsal o tarsometatarsal, y se caracteriza por fusión completa o parcial de los huesos del tarso. Esto es muy similar a las manifestaciones iniciales de la SpA en adultos lo cual es demostrado por las radiografías, en las que se observan estrechamientos en el espacio interarticular y anquilosis del hueso (Burgos-Vargas, 2012).

Se han propuesto tres etapas para abordar los primeros síntomas de la afección de los pies en los pacientes con JoSpA, en la etapa prodrómica se presentan pocos síntomas, como episodios aislados, esporádicos y de corta duración de dolor articular, a menudo confundidos con otras enfermedades. Alrededor de los 8 años comienza la etapa inflamatoria de la enfermedad, que se caracteriza por artritis, entesitis y afectación axial, por otro lado, la etapa de "continuidad" de la enfermedad, se fusiona con la anquilosis tarsal en los años de la adolescencia o con la anquilosis sacroilíaca y espinal en la edad adulta temprana. Estos acontecimientos tienen lugar cuando se producen varios cambios en el crecimiento y el desarrollo en la infancia y la adolescencia (Romero-López *et al.*, 2021).

De acuerdo con estudios previos de nuestro grupo y otros, la JoSpA difiere de aquella que inicia en la edad adulta, por la presencia de mayor entesitis y artritis periférica, con una mayor severidad asociada al inicio temprano de los síntomas (Burgos-Vargas and Granados- Arriola, 1990; Pelaez-Ballestas *et al.*, 2006; Smith and Burgos-Vargas, 2021a). A pesar de esto, se desconoce el mecanismo asociado con este aumento en la gravedad. Considerando la edad del inicio de los síntomas, es probable que los factores asociados al crecimiento normal puedan influir en la patogenia de la enfermedad.

#### *Herramientas para la evaluación de las SpA*

Debido a la dificultad para definir a las SpA, se han desarrollado diversos índices para evaluar la actividad y progresión de los pacientes. Es por esto que Garret *et al* en 1994 desarrollaron el índice de actividad de la enfermedad de la espondilitis anquilosante de Bath BASDAI por sus siglas en inglés (*Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index*), el cual consta de seis escalas analógicas visuales horizontales para medir la gravedad de la fatiga, el dolor articular periférico y espinal, la sensibilidad localizada y la rigidez matutina (tanto cualitativa como cuantitativa). La puntuación final de BASDAI tiene un rango de 0 a 10. Se considera que un paciente con SpA, tiene enfermedad activa si el valor del BASDAI es mayor o igual a 4 (Garrett *et al.*, 1994). Así mismo en 1994 el mismo grupo de estudio desarrollo un índice funcional de espondilitis anquilosante de Bath (BASFI), cuyos resultados muestran la capacidad del paciente para hacer frente a las actividades de la vida

cotidiana puntuando del 0-10 (Calin *et al.*, 1994).

Una de las herramientas más recientes para calcular la actividad de los pacientes, incluye además de elementos del cuestionario BASDAI, la velocidad de sedimentación globular (VSG) o los valores de la Proteína C reactiva (PCR), esta es la escala ASDAS (*Ankylosing Spondilitis Disease Activity Score*), que de igual forma permite clasificar a los pacientes de acuerdo a la actividad de la enfermedad, en este caso, se considera enfermedad inactiva cuando el ASDAS es <1.3, con baja actividad de la enfermedad entre 1.3 y 2.1, alta actividad de la enfermedad entre 2.1-3.5 y con muy alta actividad de la enfermedad >3.5 (Lukas *et al.*, 2009).

### *Etiopatogenesis*

La etiología de la SpA es desconocida, anteriormente se atribuía a agentes microbianos como *Klebsiella* (Russell and Almazor, 1992). Actualmente estudios de asociación genética han revelado la predisposición otorgada por el gen HLA-B27 en axSpA (Cortes *et al.*, 2013). Se ha determinado que en pacientes caucasicos y chinos se presenta entre un 85% y un 95% de positividad al HLA-B27 y en pacientes hispanos con EA un 86% (Jamalyaria *et al.*, 2017; Reveille *et al.*, 2019a), sin embargo, sólo aproximadamente el 5% de las personas positivas para HLA-B27 en la población general tienen SpA (Akkoc *et al.*, 2005).

El HLA-B27, tiene un alto grado de polimorfismos, consta de 328 alelos y 231 subtipos de proteínas que van desde HLA-B\*27:01 hasta HLA-B\*27:232. Estos subtipos se diferencian entre sí en sólo unos pocos aminoácidos, lo que puede alterar la especificidad de unión al péptido de la molécula (Galocha and López De Castro, 2010). El subtipo de HLA-B27 más común es el HLA-B\*27:05, este se distribuye en todo el mundo, se encuentra en poblaciones con diversos fondos genéticos y está fuertemente asociado con la EA (Cortes *et al.*, 2015; Dashti *et al.*, 2018; Reveille *et al.*, 2019b) .

Así mismo se ha encontrado la relación de la SpA con otros genes como LMP2, ERAP-1, ERAP-2 (Robinson *et al.*, 2015) e IL-23R (Rahman *et al.*, 2008).

Además de las asociaciones genéticas, se sabe que las citocinas proinflamatorias IL- 23, IL-17A, IL-17E e IL-22 tienen un papel crucial en la inflamación de las SpA (Appel *et al.*, 2011; Smith and Colbert, 2014). Sherlock *et al* en 2012 estudiaron el papel de la IL-23 en un modelo animal; demostraron que esta citocina es capaz de inducir la enfermedad por si sola actuando en células CD3+ CD4-, CD8- ROR $\gamma$ T+ (Sherlock *et al.*, 2012). Sin embargo, la falta de respuesta clínica a inhibidores de IL-23 (Baeten *et al.*, 2018) ha mostrado la necesidad de estudiar el papel de otras vías moleculares (McGonagle *et al.*, 2021). Actualmente, se ha aprobado el uso terapéutico de anticuerpos monoclonales dirigidos contra IL-17 en pacientes con EA (van Mens *et al.*, 2018; Schett *et al.*, 2021), aunque estos inducen mejora clínica en

apenas el 60% de los pacientes (Marzo-Ortega *et al.*, 2020). Estas citocinas tienen un papel proinflamatorio y se ha reportado un infiltrado importante de células inmunes productoras de IL-17 e IL-22 en los tejidos articulares y las entesis de pacientes con SpA (Reinhardt *et al.*, 2016a; Watad *et al.*, 2020).

Se ha reportado que, dentro de los tejidos expuestos a estrés mecánico, incluida la entesis, las células T  $\gamma\delta$  son actores clave en la patogénesis de la inflamación local inducida por IL-23 y probablemente de la formación de hueso nuevo, además de ser los principales productores de IL-17A (Reinhardt *et al.*, 2016b). Además, se ha demostrado que algunas células innatas como las células asesinas naturales (NK) y las células NKT aumentan en las articulaciones inflamadas (Chowdhury *et al.*, 2017).

Por razones desconocidas, la SpA afecta a los hombres con mayor frecuencia. Sin embargo, desde la aparición de los nuevos criterios de clasificación, se ha notado un aumento en la proporción de mujeres. La tendencia actual es a considerar que la prevalencia en hombres y en mujeres es la misma (Reyes-Cordero *et al.*, 2021).

#### *Vías moleculares asociadas al crecimiento óseo*

Además de la artritis y la entesitis, el principal problema de los pacientes con SpA es la osteoproliferación que los lleva a inmovilidad y anquilosis. La información actual sobre la relación de los biomarcadores relacionados con la actividad de la SpA y la inflamación presenta inconsistencias, por lo cual existen múltiples líneas de investigación de biomarcadores que podrían reflejar la actividad de la enfermedad, la osteoproliferación y los cambios en la resonancia magnética en las uniones sacroilíacas en pacientes con SpA (Descamps *et al.*, 2021).

En este sentido, es importante mencionar que el hueso es un tejido complejo y en constante cambio, dentro del cual reconocemos cuatro tipos de células óseas, las cuales se clasifican según su localización, morfología y función: células osteoprogenitoras, osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. Los osteoblastos se desarrollan a partir de células indiferenciadas, mientras que los osteocitos se forman a partir de osteoblastos. Los osteoclastos provienen de una línea de células troncales relacionadas con los monocitos circulantes (Boskey and Posner, 1985).

Debido a la fuerte relación de la osteoproliferación con las manifestaciones clínicas de los pacientes con SpA, parece importante estudiar los factores que propician el crecimiento óseo en la misma.

Es así que, algunas de las moléculas relacionadas con la osificación fisiológica, incluyen a las proteínas morfogénicas óseas (BMP), las de la vía *Sonic hedgehog* y las de la familia *wingless proteins* o proteínas sin alas (Wnt), las cuales son reguladores importantes de la formación ósea mediante vías de señalización intracelular que afectan la transcripción génica (Van Bezooijen *et al.*, 2004; Boyce

and Xing, 2007; Xie *et al.*, 2016).

La vía Wnt puede señalar por 4 vías diferentes, de las cuales la vía "canónica" Wnt/ $\beta$ -catenina es la mejor descrita (Klingberg *et al.*, 2014). Esta vía induce la acumulación de  $\beta$ -catenina en el citoplasma y su posible translocación al núcleo para actuar como coactivador de factores de transcripción pertenecientes a la familia TCF/LEF (*T cell factor/lymphoid enhancer factor family* o Familia de factor de células T/ Factor Potenciador Linfoide). La transmisión de señales a través del sistema Wnt/ $\beta$ -catenina suele ser la principal forma de regular la formación de hueso nuevo con un aumento de la densidad mineral ósea, acompañado de pérdida de tejido óseo trabecular en condiciones normales (Xie *et al.*, 2016).

Las proteínas Wnt, son de importancia crítica en la homeostasis ósea normal, en particular en la formación de hueso nuevo osteoblástico, por lo tanto, se ha propuesto que las proteínas Wnt también pueden desempeñar un papel en el proceso de formación de hueso nuevo en la EA (Xie *et al.*, 2015). Un estudio realizado por Klingberg *et al.* en 2014 ha demostrado que los pacientes con SpA tenían niveles séricos de Wnt3 más altos en comparación con los controles sanos. La vía canónica de Wnt está regulada por familias de antagonistas, como Dickkopf-1 (DKK1). DKK1, regula la señalización de Wnt mediante su unión a un co-receptor, el receptor relacionado con la lipoproteína de baja densidad (Hoshi, Komori and Ozawa, 1999). Hay resultados inconsistentes en diferentes estudios de los niveles séricos de Dkk-1 en pacientes con SpA y sujetos de control sanos. Por ejemplo, Zhang *et al.* demostraron que los niveles séricos de Dkk-1 en pacientes con SpA eran más altos que los de los sujetos control (Zhang *et al.*, 2016), mientras que otros autores informaron que los pacientes con SpA tenían niveles más bajos de Dkk-1 en comparación con los controles (Kwon *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2019). Por lo tanto, se necesita más investigación para estudiar el papel fisiopatológico de Dkk-1 en pacientes con SpA.

La esclerostina, es una proteína codificada por el gen SOST. Esta proteína, es segregada específicamente por los osteocitos y tiene un efecto negativo sobre la formación ósea, a través de la inhibición de la vía canónica de Wnt (Van Bezooijen *et al.*, 2004). Se ha informado que los niveles séricos de esclerostina fueron más bajos en pacientes con SpA en comparación con los sujetos de control (Perrotta *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2019).

Por otra parte, la maduración de los osteoclastos requiere un activador del receptor del ligando del factor nuclear  $\kappa$ B (RANKL). RANKL, se une a RANK en los precursores de osteoclastos, induciendo su transformación en osteoclastos maduros teniendo un efecto de resorción sobre el hueso. La expresión de RANKL se ve reforzada por citocinas proinflamatorias. La interacción RANK-RANKL es inhibida por la osteoprotegerina (OPG), un receptor señuelo para RANKL que tiene

un efecto anti-resortivo sobre el hueso (Boyle, Simonet and Lacey, 2003; Boyce and Xing, 2007). Según Klingbert *et al.* en 2014, los pacientes con EA tenían niveles séricos significativamente más altos de Wnt-3a, niveles séricos más bajos de esclerostina, niveles séricos más bajos de sRANKL y una relación sRANKL/OPG más baja en comparación con los controles sanos. Los niveles séricos de DKK-1 mostraron una tendencia a ser mayores en los pacientes con SpA (Klingberg *et al.*, 2014).

Las BMP, (*bone morphogenic proteins* o proteínas morfogénicas óseas) son miembros de la superfamilia del factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ) y se identificaron originalmente por su capacidad de inducción ósea. Se sugiere que muchas BMP desempeñan un papel en diferentes etapas del proceso de anquilosis en un modelo de ratón. En la etapa temprana participan BMP-2 y BMP-7 en condrocitos prehipertróficos, por otra parte, en etapas avanzadas participa BMP-6 en condrocitos hipertróficos (Descamps *et al.*, 2021).

Es posible que los factores de crecimiento de fibroblastos (*fibroblast growth factor* o factor de crecimiento de fibroblastos FGF) FGF2 y FGF9 trabajen en la proliferación del linaje celular de osteoblastos, así como en la inducción de angiogénesis, y FGF18 funcione en la promoción de la diferenciación de osteoblastos (Charoenlarp, Rajendran and Iseki, 2017).

Además, la inflamación local parece ser crucial para desencadenar el proceso de formación de hueso en modelos animales de artritis inflamatoria (Schett *et al.*, 2009), sin embargo, existe controversia. Por un lado, Maksymowych *et al.* en 2009 sugieren que la inflamación se ve relacionada con la formación de hueso en los pacientes con SpA. Esta idea surge del hecho de que el depósito de grasa en el hueso, (principalmente los huesos de la pelvis) está asociado al proceso inflamatorio. Esta alteración parece preceder la aparición de puentes óseos y sindesmofitos en estudios longitudinales de resonancia magnética (Maksymowych *et al.*, 2009). Por otro lado, Baraliakos *et al.* en 2008, sugieren que la formación de hueso se desarrolla en sitios con inflamación previamente identificados y en sitios donde la inflamación está ausente (Baraliakos *et al.*, 2008). A pesar de que múltiples estudios se enfocan en el proceso inflamatorio asociado al inicio y persistencia de la enfermedad, los factores asociados a la osteoproliferación característica de estos pacientes, siguen siendo poco explorados.

#### *Papel de las hormonas en la patogenia de la SpA*

Anteriormente, se intentó establecer una relación entre las hormonas masculinas y la EA. Los resultados no han sido convincentes acerca de la implicación de las hormonas sexuales en la inflamación que caracteriza a las SpA, sin embargo, se sabe que mayores niveles de testosterona se relacionan con peor pronóstico (Masi,



1992). También, Gracey *et al.*, demostraron que las moléculas asociadas con la inmunidad tipo Th17 se encuentran preferentemente elevadas en hombres con EA, lo cual sugiere un papel de la testosterona en este fenotipo (Gracey *et al.*, 2016). Así mismo, se demostró que los pacientes varones con EA tienen una concentración mayor en suero de IL-17. Por el contrario, las mujeres con EA activa, tienen una concentración menor de estradiol (Jimenez-Balderas *et al.*, 1990). Se ha postulado un efecto positivo con la administración de hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) en pacientes con EA (Tapia-Serrano *et al.*, 1991).

Durante la infancia y adolescencia, la hormona de crecimiento (GH, *growth hormone* o hormona de crecimiento), estimula y regula el crecimiento y metabolismo. A su vez, la GH controla la síntesis de factor de crecimiento semejante a la insulina-1 (IGF-1, *Insulin growth factor-1*), que controla el crecimiento corporal a través de su efecto en el receptor IGFR-1 (Carmichael, 2021). La GH y el IGF-1, son fundamentales para lograr el crecimiento óseo longitudinal, la maduración esquelética y la adquisición de masa ósea durante el período posnatal, IGF-1 también está involucrado en la conservación de masa ósea en la vida adulta (Giustina, Mazziotti and Canalis, 2008).

El receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGFR-1), es una tirosinacinasas transmembranal, que está presente en prácticamente todas las células de los mamíferos. Este receptor, reconoce al IGF-1 (Zaidi, 2007), y puede hacer que células mesenquimales se diferencien en condrocitos (Longobardi *et al.*, 2006), regulando su metabolismo anabólico y por lo tanto favoreciendo la remodelación del cartílago (Fortier *et al.*, 2002). Además, los niveles séricos de IGF-1 se correlacionan con los marcadores de formación y reabsorción ósea en sujetos sanos (Niemann *et al.*, 2013). Existen varias moléculas asociadas a la regulación de la vía, como las proteínas de unión (IGFBP, *Insulin growth factor binding protein* o proteína de unión al factor de crecimiento semejante a la insulina tipo 1) (Hjortebjerg, 2018), que tiene efectos tanto estimuladores como inhibidores sobre la vía de IGF-1.

La vía de IGF-1 está alterada en distintas enfermedades reumáticas, por ejemplo, en la artritis reumatoide (AR), se ha reportado que los condrocitos, los fibroblastos sinoviales y algunos leucocitos que expresan IGFR-1, participan en la inflamación articular (Verschure *et al.*, 1995; Boström *et al.*, 2011).

Se ha mostrado, que en pacientes con AR la señalización de IGFR-1 contribuye a la inflamación dependiente de células T en la artritis a través de las citocinas IL-6 e IL-17 (las cuales se encuentran relacionadas con la patogénesis de la SpA) (Erlandsson *et al.*, 2017).

En un modelo experimental de AR, se determinó que la inhibición del receptor IGFR-1 reduce la gravedad de la enfermedad al restringir la formación de células Th17 dependientes de IL-6. Así mismo, se encontró que la expresión de IGFR-1 en

leucocitos de sangre periférica está asociada con una mayor inflamación sistémica, demostrada por un aumento en la velocidad de sedimentación globular y los niveles de IL-6 en suero, acompañados de una mayor percepción del dolor (Erlandsson et al., 2017).

Di Toro *et al.* (2020), determinaron que las células Th17 y las células Treg se diferencian a partir de su expresión de IGFB4, el cual actúa como regulador clave de la biodisponibilidad de IGF y de IGFR-1. Además, la señalización a través de IGFR-1 determina el destino celular de células T CD4+ vírgenes con un desarrollo dependiente de TGF $\beta$ , mejora la activación de la vía AKT-mTOR para suprimir el desarrollo de células Treg y potenciar el desarrollo de células Th17 a través de la supresión de apoptosis (DiToro et al., 2020).

Es así que, la relación de los factores de la vía IGF-1 con la inflamación y osificación en los pacientes indica que, la señalización del receptor IGFR-1 es capaz de favorecer un cambio fenotípico en las células T, hacia un perfil proinflamatorio Th17, lo cual probablemente esté relacionado con la inflamación articular en SpA (DiToro et al., 2020).

Esta posible relación no ha sido explorada en espondiloartritis y podría explicar el fenotipo característico de los pacientes con SpA de inicio juvenil.

## **Planteamiento del problema**

Las SpA, ocurren con mayor frecuencia en la edad adulta. Sin embargo, cerca del 15% de los pacientes tiene sus primeros síntomas antes de los 16 años. Mientras que la forma adulta afecta con mayor frecuencia el esqueleto axial, en los niños y adolescentes el órgano blanco son las articulaciones periféricas. Se plantea que las características de estos pacientes se relacionan con la influencia de ejes hormonales, sin embargo, los estudios sobre el papel de las hormonas en la inflamación solamente han involucrado a las hormonas sexuales, sin tomar en cuenta a aquellas asociadas al crecimiento óseo.

Debido a la probable relación de los factores de crecimiento en la SpA y la relación de la vía IGF-1/IGFR-1 con la inmunidad tipo Th17, la presente investigación pretende conocer la expresión del receptor (IGFR-1) en diversas poblaciones leucocitarias de pacientes con SpA de inicio juvenil y adulto.

## **Justificación**

Se ha documentado que la SpA desarrolla mayor gravedad cuando presenta manifestaciones clínicas en la infancia, generando en los pacientes que la presentan dolor, rigidez y pérdida de la movilidad, lo cual se debe a asociaciones genéticas y de citocinas, sin embargo, la causa sigue sin describirse completamente.

Dado que en las SpA se presenta inflamación y osteoproliferación asociadas a IL-17 e IL-22, se plantea la posibilidad de que la inflamación sea potenciada por el efecto de las hormonas asociadas al crecimiento, considerando que recientemente se reportó la relación entre IGF-1 y la producción de IL-17 (DiToro *et al.*, 2020).

Lo anterior podría facilitar el descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas que beneficien entre el 50% y 60% de los pacientes que no responden a los tratamientos actuales. Es por esto que se considera que IGF-1 e IGFR-1 pudieran estar relacionados con el origen y agravamiento de la patología.

## **Hipótesis**

Las células T CD4+ y CD8+ de pacientes con SpA de inicio juvenil expresarán más IGFR-1 que los controles y los pacientes con SpA de inicio adulto.

## **Objetivos**

### General

- Evaluar la expresión del receptor de IGF-1 (IGFR-1) en granulocitos, y linfocitos T, T $\gamma\delta$ , NK y NKT de pacientes con espondiloartritis de inicio juvenil y adulto.

### Particulares

- Determinar la expresión de IGFR-1 en granulocitos, linfocitos T, linfocitos T, CD4+, CD8+, T $\gamma\delta$ , NK Y NKT de pacientes con SpA de inicio juvenil y adulto.
- Identificar la relación entre la expresión de IGFR-1 en las poblaciones celulares de estudio y la severidad de la espondiloartritis medida por la escala ASDAS-PCR.

## **Materiales y métodos**

- 1) Tipo de estudio: Se trata de un estudio observacional, transversal, descriptivo en el que se tomaron muestras de sangre de pacientes con SpA de inicio juvenil y adulto que recibieron atención médica en el servicio de reumatología del Hospital

General de México para el posterior análisis en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la UNAM.

2) Población y tamaño de la muestra: El cálculo del tamaño de la muestra se determinó de acuerdo con la prevalencia de la SpA en México, considerando una población con distribución de Poisson. Mediante un muestreo por conveniencia, se seleccionaron pacientes mayores de 18 años con SpA de inicio juvenil y adulto. Acorde a la prevalencia de SpA en México se obtuvo una muestra de 10 sujetos adultos con diagnóstico de SpA clasificado con los criterios de ASAS y 10 muestras de sujetos sanos pareados con edad y sexo de los pacientes con SpA.

3) Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

a) Criterios de Inclusión

- Pacientes que cumplan con los criterios ASAS para axSpA o pSpA, y acepten participar en el estudio mediante la firma de una carta de consentimiento informado.
- Pacientes con SpA de cualquier edad y sin distinción de sexo.
- Solo para muestras de líquido sinovial: Pacientes con los criterios anteriores que acudan a consulta médica del servicio de reumatología con derrame articular de rodilla identificado mediante exploración física, que requieran una artrocentesis terapéutica.
- Pacientes con SpA y un índice de actividad de la enfermedad ASDAS-PCR igual o mayor a 2.1 (alta actividad de la enfermedad).

b) Criterios de exclusión

- Pacientes que reciban tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-IL-17.
- Pacientes que padezcan otras enfermedades reumáticas no relacionadas con la SpA.
- Pacientes que cursen con inmunodeficiencias, enfermedades inflamatorias no relacionadas con la SpA, enfermedades infecciosas u oncológicas.
- Pacientes con gigantismo, acromegalia o diabetes mellitus.
- Pacientes que hayan cursado con algún proceso inflamatorio en el último mes.

c) Criterios de eliminación

- Muestras insuficientes
- Muestras con suero lipídico

4) Clasificación de los pacientes y controles: Los pacientes serán clasificados en

dos grupos de acuerdo con la edad al inicio de los síntomas. Aquellos pacientes con inicio de la enfermedad antes de los 16 años se considerarán en el grupo de SpA de inicio juvenil (JoSpA), y el resto se considerarán en el grupo de SpA de inicio adulto.

5) Variables a evaluar: Durante la consulta médica, el reumatólogo registrará las siguientes variables en el formato de recolección de datos:

- Edad del paciente
- Edad al inicio de síntomas
- Edad al diagnóstico
- Actividad deportiva
- Tratamiento actual
- Proteína C reactiva
- Velocidad de sedimentación globular
- Actividad de la enfermedad (ASDAS y BASDAI)
- Expresión de IGFR-1 en las poblaciones celulares de estudio

6) Procedimiento

Tamaño de la muestra

El cálculo del tamaño de la muestra se determinó con la fórmula de estimación de muestra por proporción utilizando la expresión  $n = \frac{N*Z\alpha^2*p*q}{e^2*(N-1)+Z^2*p*q}$

Donde:

-N (Tamaño de la población) = población mexicana 130,000,000

-Z $\alpha$  (coeficiente del nivel de confianza) = 1.96, con un nivel de confianza del 95%

-p = 0.6, probabilidad de éxito, siguiendo la prevalencia de las SpA en México.

-q = 0.4, probabilidad de fracaso

-e = 0.05, error de estimación máximo aceptado por el investigador

Por lo tanto,  $n = \frac{130000000*1.96^2*0.006*0.994}{0.05^2*(130000000-1)+1.96^2*0.006*0.994} = \frac{2996448}{325000.0204} = 9.21$

De acuerdo con el resultado calculado, se sugiere una muestra mínima de 9 pacientes.

7) Evaluación clínica:

A cada paciente se le realizó un cuestionario durante la consulta médica, en el cual, el reumatólogo registró variables clínicas y paraclínicas en la hoja de recolección de datos.

Previo a la obtención de muestra de sangre periférica, se explicaron los objetivos del proyecto, riesgo de toma de muestra, confidencialidad de los datos obtenidos

y se otorgó un consentimiento informado para firma autógrafa del sujeto y dos testigos. Se recopiló información a aquellos pacientes que aceptaron participar voluntariamente en el proyecto de investigación y se registró en la hoja de recolección de datos (Anexo 1, 2, 3). Además, estos pacientes se evaluaron clínicamente por un médico reumatólogo, clasificado de acuerdo con los criterios de ASAS (Anexo 4), ASDAS-PCR (Anexo 5), manifestaciones articulares y extrarticulares (Anexo 6), conteo articular de miembros inferiores (Anexo 7), BASFI (Anexo 8), BASDAI (Anexo 9), BASMI (Anexo 10) y el número de articulaciones afectadas (Anexo 11) y en caso de padecerla, también se realizó un cuestionario de tarsitis (Anexo 12).

8) Obtención de las muestras sanguíneas.

En los pacientes incluidos, se obtuvo una muestra de sangre periférica de 20mL mediante punción venosa con sistema de recolección al vacío de una de las extremidades superiores. Se colocó un torniquete elástico en una de las extremidades, aproximadamente 5 cm por arriba de la fosa cubital, y previa asepsia con etanol al 70%, se puncionó la vena mediante aguja BD Vacutainer® Múltiple de 21G. Se recolectaron 2 tubos BD Vacutainer® con heparina de sodio de 10 mL por sujeto que participó en el estudio, los cuales fueron trasladados rotulados con iniciales del paciente, fecha y hora de extracción en contenedores plásticos con hielo en un periodo menor de 4 h de la extracción en un vehículo particular, de acuerdo con lo establecido en las normas oficiales mexicanas: NOM-087-ECOL-SSA1-2002 y NOM-253-SSA1-2012.

9) Procesamiento de las muestras sanguíneas

Posteriormente las muestras fueron transportadas en un contenedor con hielo al laboratorio 4/A4 de la FES Iztacala y se realizó el inmunofenotipo de las células T utilizando el siguiente panel de anticuerpos acoplados a fluorocromos: anti-CD3 FITC, anti-CD4 PerCP/Cy5.5, anti-CD8a PE-Cy7, anti-CD56 BV421, y anti-IGFR1 PE (Biolegend®).

Se tomaron 100 µL de sangre completa de las muestras almacenadas en tubos "BD Vacutainer 21uve" con heparina y se incubaron con los anticuerpos acoplados a fluorocromos previamente mencionados a concentraciones adecuadas (determinadas por titulación de cada anticuerpo). Se incubaron por 15 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad y se lisaron los eritrocitos con amortiguador *FACS Lysing*. Posteriormente se lavaron con regulador de tinción (PBS + 0.5% BSA) y se resuspendieron en 100µL de amortiguador de tinción. Una vez terminado, se analizaron en el citómetro espectral Aurora de la Central de Instrumentos del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS

adquiriendo un mínimo de 30,000 células IGFR-1 positivas.

Los datos fueron analizados usando el software FlowJo® y considerando controles de referencia para cada fluorocromo y controles FMO para diseñar el algoritmo de análisis.

#### 10) Análisis de datos

Posterior a la recolección de datos, se determinó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilks, los datos normales se compararon mediante la prueba T de Student, los datos que no pasaron la prueba de normalidad se compararon con los datos de la prueba de U de Mann-Whitney y de acuerdo con esto, se realizó una correlación de Spearman para correlacionar los valores obtenidos del factor de crecimiento con el resto de las variables mediante los softwares FlowJo® y GraphPad Prism 8.0 ®. Se consideraron diferencias y correlaciones significativas cuando el valor de p fue menor o igual a 0.05.

#### **Aspectos de ética y bioseguridad**

Se obtuvieron muestras biológicas de aquellos pacientes que acudieron a consulta médica del servicio de Reumatología del Hospital General de México, que cumplieron con los criterios de inclusión y que, habiendo leído y firmado la carta de consentimiento informado, aceptaron su participación en el estudio. La consulta médica, llenado de formatos de recolección de datos y toma de muestra de sangre venosa se realizó en el consultorio 27 del servicio de reumatología del H.G.M. La muestra sanguínea se obtuvo mediante un sistema de recolección al vacío con previa asepsia con etanol al 70% por el médico pasante de servicio social. Las muestras recolectadas se rotularon con las iniciales del paciente, fecha y hora de obtención de la muestra. Los residuos peligrosos biológico-infecciosos se depositaron en recipientes rígidos de polipropileno rojos y se desecharon según lo que indica la NOM-087-ECOL.-SSA1-2000.

Las muestras obtenidas fueron rotuladas con las características antes mencionadas y se almacenaron en contenedores de plásticos con hielo en un periodo menor de 4 horas de la extracción en un vehículo particular, de acuerdo con lo establecido en las normas oficiales mexicanas: NOM-087- ECOL-SSA1-2002 y NOM-253-SSA1-2012. Finalmente, las muestras obtenidas con los cuidados antes mencionados fueron transportadas en un contenedor con hielo al laboratorio 4/A4 de la FES Iztacala

La prevención de exposiciones al material biológico tuvo en consideración el uso de guantes de látex, cubrebocas, bata de laboratorio y el manejo de residuos con las características antes mencionadas.

Este proyecto fue aprobado por el comité de ética del Hospital General de México

con el número de aprobación DI/404-A/04/10 se anexa carta de aprobación (Anexo 13) y por el comité de bioseguridad de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la UNAM con el número de folio 0146. Se anexa carta de aprobación (Anexo 14).

## Resultados

### *Reclutamiento de pacientes*

Se reclutaron 9 pacientes que donaron sangre total y 1 paciente de líquido sinovial, de los cuales se registraron los datos demográficos y clínicos (Tabla 1) dentro de los cuales se encontraron pacientes mayormente del sexo masculino, con un promedio de edad de 35 años, en su mayoría, no realizan actividad física, ninguno de los pacientes tiene antecedentes familiares de SpA, tienen comorbilidades como obesidad (11%), esquizofrenia (11%), hipotiroidismo (11%), hipertensión arterial sistémica (11%) y rinitis alérgica (11%). Algunos de los síntomas actuales fueron dolor dorsolumbar inflamatorio (22%), artritis (77%), entesítis (33%), uveítis (22%), lumbalgia (88%), y dactilitis (33%).

Tabla 1. **Datos demográficos y clínicos.** Datos obtenidos de 9 pacientes y 9 testigos sanos, donde; se muestran las medias de los valores  $\pm$  desviación estándar, NA = no aplica.

	<b>SpA (n=9)</b>	<b>Testigos (n=9)</b>
<b>Edad (años)</b>	35.71 $\pm$ 14.19	35.85 $\pm$ 13.87
<b>Sexo</b>	H:6 M:3	H:4 M:5
<b>HLA-B27+</b>	88%	0%
<b>axSpA o pSpA</b>	axSpA:7 pSpA:3	NA
<b>ASDAS (actividad de la enfermedad)</b>	2.84 $\pm$ 1.67	NA
<b>BASDAI (actividad de la enfermedad)</b>	5.45 $\pm$ 3.51	NA
<b>BASFI (Función)</b>	3.83 $\pm$ 3.1	NA
<b>PCR (mg/dL)</b>	17.08 $\pm$ 16.93	NA
<b>VSG (mm/h)</b>	30 $\pm$ 18.20	NA
<b># articulaciones afectadas</b>	5 $\pm$ 7.01	NA
<b>Actividad física</b>	28.5% Sí 71.5% No	NA
<b>Tratamiento</b>		
<b>AINES</b>	4	NA
<b>Sulfasalazina</b>	5	NA
<b>Esteroides</b>	2	NA
<b>Metotrexato</b>	1	NA



<b>Infliximab (anti-TNF)</b>	1	NA
------------------------------	---	----

### Titulación de anticuerpos

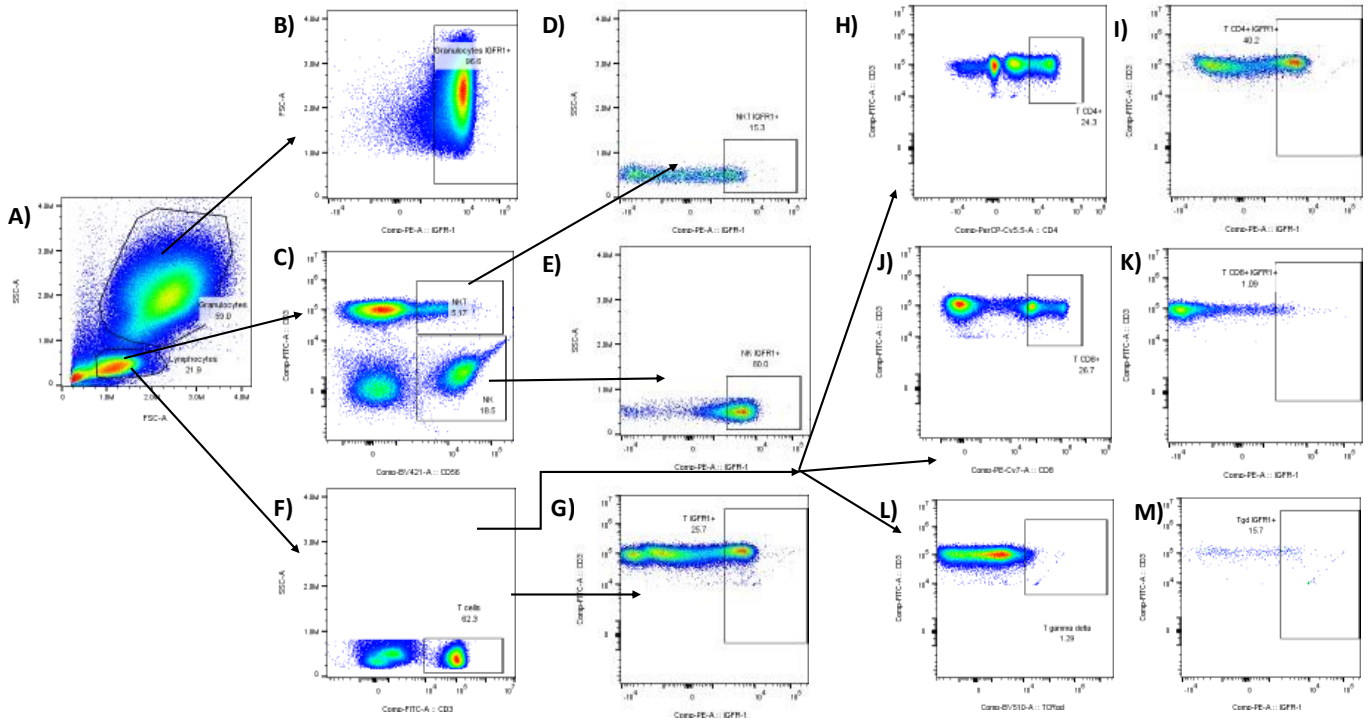
Se realizó la titulación de anticuerpos acoplados a fluorocromos CD3 FITC, CD4 PERCP Cy5.5, CD8 PE Cy7, CD56 BV421, TCR  $\gamma\delta$ , BV510, IGFR-1 APC para determinar la cantidad necesaria de anticuerpo a usar, esto se realizó mediante citometría espectral, con esto se determinó que las mejores concentraciones para cada anticuerpo son las siguientes:

**Tabla 2. Cantidad de anticuerpo seleccionada.**

<b>Marcador</b>	<b>Fluorocromo</b>	<b>Cantidad de anticuerpo por cada 100 <math>\mu</math>l de sangre</b>
<b>CD3</b>	FITC	2.5 $\mu$ L
<b>CD4</b>	PERCP Cy5.5	1 $\mu$ L
<b>CD8</b>	PE Cy7	1.25 $\mu$ L
<b>CD56</b>	BV421	5 $\mu$ L
<b>TCR <math>\gamma\delta</math></b>	BV510	2.5 $\mu$ L
<b>IGFR-1</b>	APC	2.5 $\mu$ L

## Diseño del algoritmo de análisis

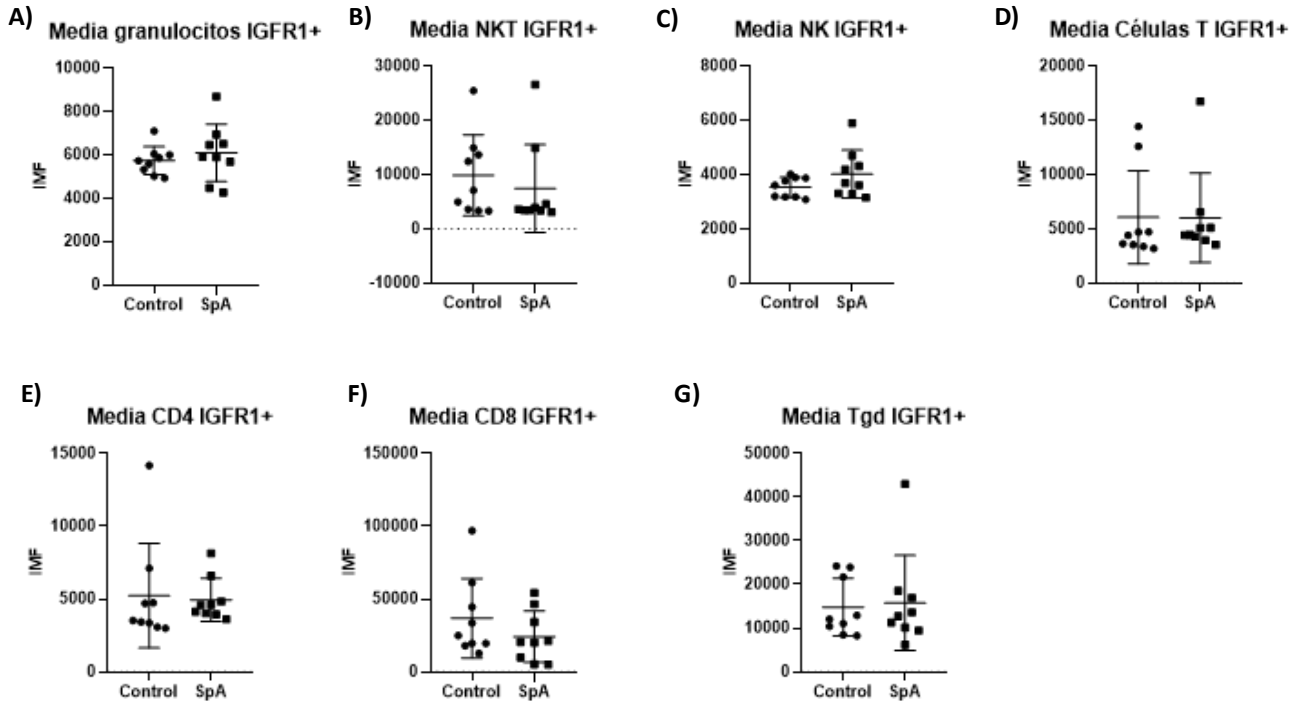
Se realizó el control de fluorescencia menos uno (FMO) para para determinar la estrategia de análisis de las distintas poblaciones de estudio, en estos tipos de control experimental se añaden todos los anticuerpos del panel excepto el de interés lo cual facilita la selección de los *gates* para cada población. De esta forma, diseñamos el algoritmo de análisis que se muestra en la Figura 1.



**Figura 1.** Algoritmo de análisis por citometría de flujo espectral para el análisis de sangre de pacientes y controles. A través de un algoritmo supervisado se realizó una gráfica de puntos de la cual se seleccionaron los linfocitos y granulocitos (A), así mismo se seleccionó una gráfica de puntos donde se seleccionaron a los granulocitos IGFR-1+ (B), se seleccionó una gráfica de puntos donde se seleccionaron a linfocitos NK y NKT + (C). Además se analizó la población de linfocitos NKT IGFR1+ (D), la población de Linfocitos NK IGFR1+ (E), la población de los linfocitos T (F), y la población de Linfocitos T que expresan IGFR-1+ (G) Población de linfocitos T CD4+ (H), y así mismo los Linfocitos T CD4 IGFR1+ (I), la población de Linfocitos T CD8+ (J) y de la misma manera a los Linfocitos T CD8 IGFR1+(K), se seleccionó a la Población de linfocitos T $\gamma\delta$ + (L) y finalmente a los Linfocitos T $\gamma\delta$  IGFR1+ (M).

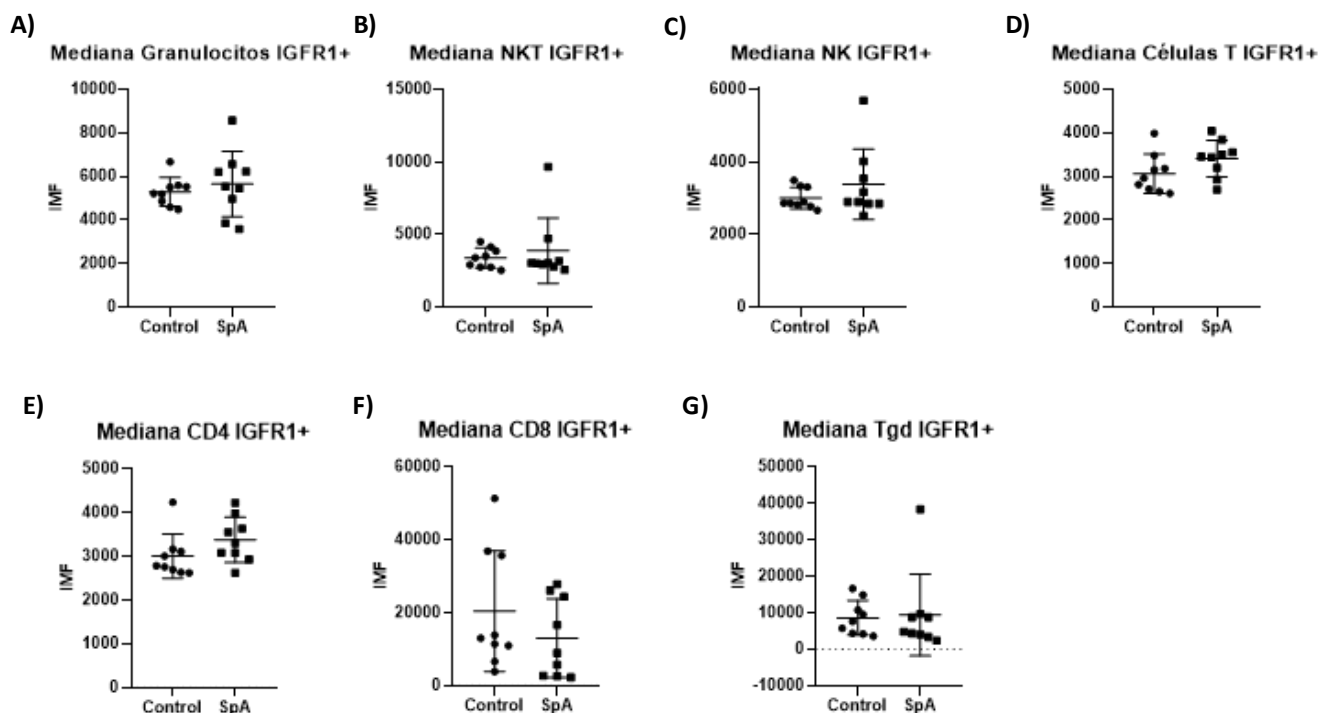
## Análisis de las poblaciones de leucocitos en sangre de pacientes con SpA

No se encontraron diferencias significativas en la intensidad media de fluorescencia de IGFR1 en ningún tipo celular, sin embargo, se encontró una tendencia a encontrar mayor intensidad media de fluorescencia (IMF) en granulocitos IGFR1+, células NK IGFR1+, células T CD4 IGFR1+ y células T $\gamma\delta$  (Figura 2A, C y E) en pacientes con SpA a diferencia de los controles.



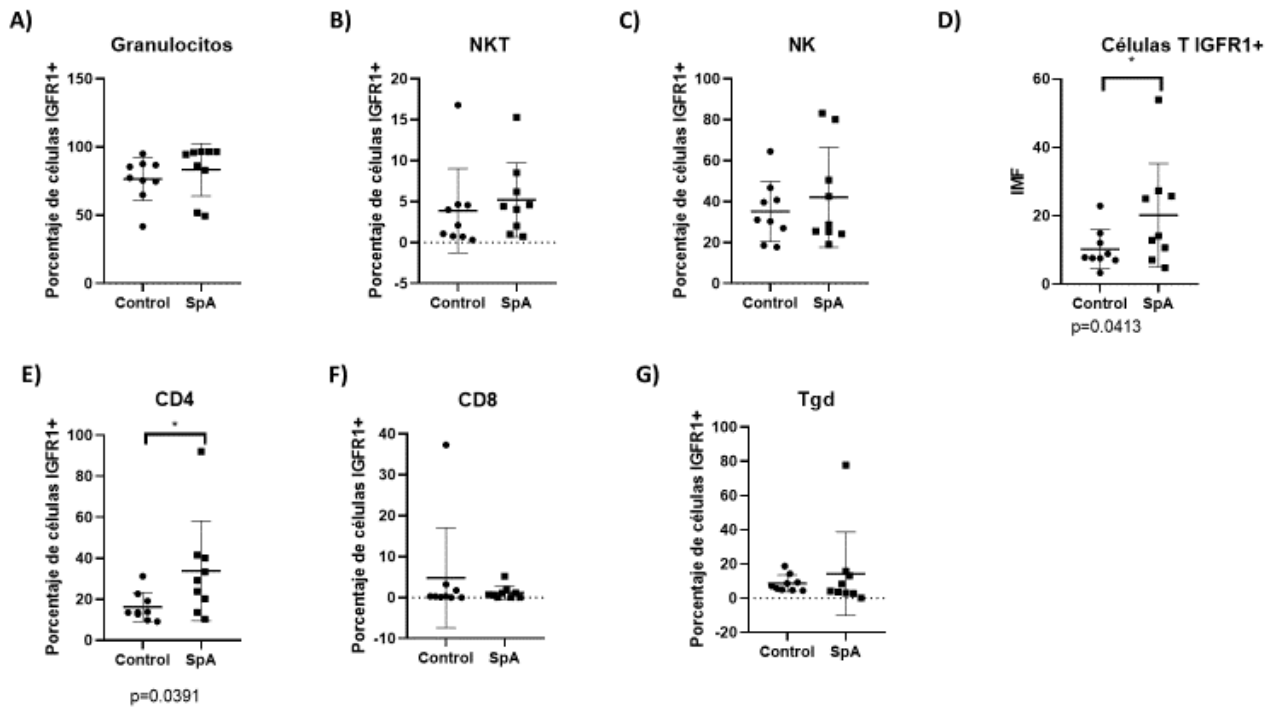
**Figura 2.** Intensidad media de fluorescencia de IGFR-1 en las poblaciones celulares estudiadas, mostrando la comparación de controles con pacientes, A) Granulocitos IGFR1+ , B) NKT IGFR1+, C) NK IGFR1+, D) Linfocitos T IGFR1+, E) Linfocitos T CD4+, F) Linfocitos T CD8+ ,G) T $\gamma\delta$  IGFR1+.

Para corroborar los resultados obtenidos mediante de la intensidad media de fluorescencia se analizó la intensidad mediana de fluorescencia (Figura 3), donde de la misma manera no se encontraron diferencias significativas en la intensidad mediana de fluorescencia de IGFR1 en ningún tipo celular, sin embargo, se encontró una tendencia a encontrar mayor intensidad mediana de fluorescencia en granulocitos IGFR1+, células NK IGFR1+, células T CD4 IGFR1+ células T $\gamma\delta$  en pacientes con SpA a diferencia de los controles (Figura 3A, B, E, E y G).



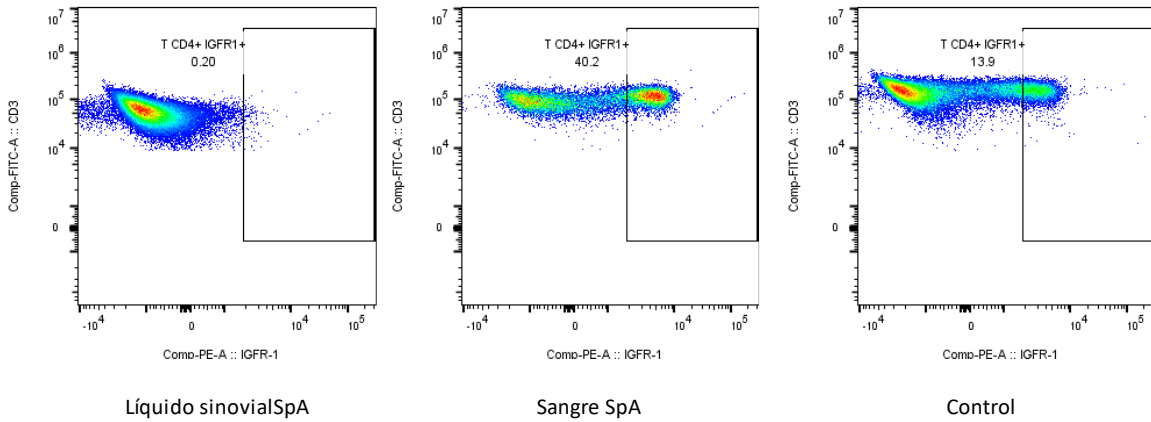
**Figura 3.** Intensidad mediana de fluorescencia de IGFR-1 en las poblaciones de estudio, comparando controles con pacientes, A) Granulocitos IGFR1+, B) NKT IGFR1+, C) NK IGFR1+, D) Linfocitos T IGFR1+, E) Linfocitos T CD4+, F) Linfocitos T CD8+, G) T $\gamma\delta$  IGFR1+.

Al analizar las frecuencias de las poblaciones celulares positivas a IGFR-1, se encontró un incremento en el porcentaje de células T positivas a IGFR-1 de pacientes con SpA contra los testigos ( $p=0.0413$ ) (Figura 4D), así mismo se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de células T CD4+ positivas a IGFR-1 en pacientes con SpA contra los controles ( $p=0.0391$ ) (Figura. 4E). Por lo contrario, en granulocitos y linfocitos T CD8+ no se encontraron diferencias entre pacientes con SpA y testigos.



**Figura 4.** Porcentaje de células IGFR1+ en las poblaciones de: A) Granulocitos B) NKT C) NK D) Linfocitos T E) Linfocitos T CD4+ F) Linfocitos T CD8+ G) Linfocitos T $\gamma\delta$ +

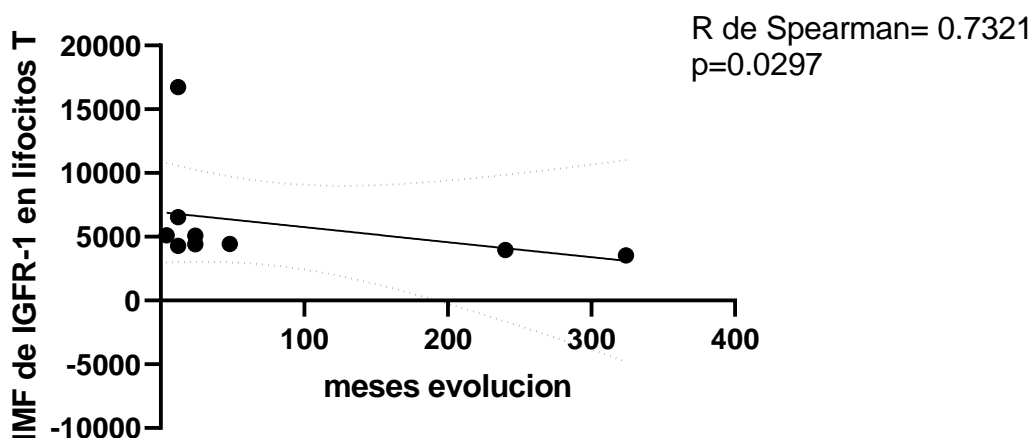
Considerando que se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de células T y T CD4+ positivas a IGFR-1, se comparó la frecuencia de estas células en la sangre y LS de un paciente con 20 años, síntomas actuales como artritis, entesitis, dactilitis y anquilosis, hallazgos en radiografía de sacroilitis bilateral grado IV, BASFI de 9.7, BASDAI de 8.9 y 2 años de evolución de la enfermedad (Figura 5).



**Figura 5.** Comparación entre población CD4+ IGFR1+ en líquido sinovial y sangre periférica de un paciente contra un control.

Se correlacionaron las variables clínicas estudiadas, tales como los meses de evolución, los índices de ASDAS y BASDAI con los resultados obtenidos de IMF de linfocitos T IGFR-1+. Mediante una correlación de Spearman se encontró que a medida que incrementan los meses de evolución, disminuye la IMF de IGFR-1 en linfocitos con un valor de R de 0.7321 y una  $p=0.0297$  (Figura 7)

### Correlación de Spearman



**Figura 6.** Correlación de Spearman. En el eje de las Y se encuentra la intensidad media de fluorescencia de IGFR-1 en linfocitos T y en el eje de X los meses de evolución de la enfermedad.

## Discusión

En este estudio se analizaron 9 muestras de sangre total de pacientes con diagnóstico de SpA y 1 muestra de líquido sinovial de un paciente con derrame articular, buscando la expresión de IGFR1 en las poblaciones de granulocitos, linfocitos T, T CD4+, CD8+, T $\gamma\delta$ , NK, NKT mediante citometría espectral.

En cuanto a la prevalencia del gen HLA-B27 en SpA, autores como Jamalyaria *et al.* (2017) o Reveille *et al.* (2019) han reportado que en poblaciones hispanas se espera un 86% de positividad al gen, y particularmente un 93.8% en la población mestiza mexicana (López-Larrea *et al.*, 1995) en este estudio evaluamos la positividad al gen en nuestros pacientes y encontramos un 88% de pacientes con SpA positivos al gen HLA-B27 (Jamalyaria *et al.*, 2017; Reveille *et al.*, 2019b).

Inicialmente, se buscaba encontrar la diferencia en la expresión de IGFR-1 en pacientes con JoSpA y SpA de inicio adulto, sin embargo, no se reclutaron a los suficientes pacientes con JoSpA. De los pacientes reclutados, la media de ASDAS fue de 2.84 y la media de BASDAI fue de 5.45 lo cual indica que los pacientes estaban cursando una enfermedad grave, con enfermedad predominantemente axial, además la mayoría de los pacientes presentaron síntomas actuales como lumbalgia (88%) y artritis (77%).

Este estudio se basa en que los pacientes con JoSpA presentan mayor gravedad de la enfermedad que los pacientes con SpA de inicio adulto, lo cual se asume que es debido a factores como IGFR-1. En este sentido estudios previos indican que la SpA de inicio juvenil difiere de aquella que inicia en la edad adulta, por la presencia de mayor entesitis y artritis periférica, con una mayor severidad asociada al inicio temprano de los síntomas (Burgos-Vargas & Granados- Arriola, 1990; Pelaez-Ballestas *et al.*, 2006; Smith & Burgos-Vargas, 2021).

En cuanto al fenotipo de la artritis, los niños con JoSpA/ artritis relacionada con entesitis (ERA) suelen presentar artritis oligoarticular asimétrica que afecta las grandes articulaciones que soportan peso (rodillas), los tobillos, la parte media del pie y las articulaciones de la raíz (caderas y hombros) (Gmuca *et al.*, 2017; Rosenberg & Petty, 1982; J. A. Smith & Burgos-Vargas, 2021b; Weiß *et al.*, 2017). Además, diversos autores estipulan que un grupo de niños con JoSpA/ERA tienen peores resultados que otras categorías de artritis idiopática juvenil en lo que respecta a las tasas de remisión, el dolor y la calidad de vida (Flatø *et al.*, 2006; Weiss *et al.*, 2012).

Aun no hay información clara sobre cuál es la razón de que la JoSpA sea más grave que la SpA de inicio adulto, es por esto que, entre todos los factores de crecimiento involucrados con el crecimiento óseo, buscamos aquel que estuviera relacionado con el crecimiento óseo fisiológico y de la misma manera con la SpA y que este



podiese explicar la gravedad de la JoSpA. Es importante mencionar que no existe información previa a este estudio, y que no se logró hacer comparación entre JoSpA y SpA de inicio adulto, sin embargo, este estudio proporciona información que muestra una posible función de IGFR-1 en la SpA en general.

Asimismo, se ha propuesto la participación de múltiples factores de crecimiento y formación ósea en SpA, tal es el caso de las proteínas Wnt, (Xie *et al.*, 2016), DKK1 (Zhang *et al.*, 2016), BMP-2, BMP-6 y BMP-7 (Descamps *et al.*, 2021), sin embargo, estos factores de crecimiento se asocian a crecimiento óseo tanto en adultos como en juveniles, por lo tanto, se propone que IGFR-1 podría explicar la diferencia entre pacientes con JoSpA y SpA de inicio adulto.

Respecto a la evaluación de poblaciones de leucocitos en sangre, en este estudio se encontró una tendencia al incremento de IMF de IGFR-1 en, NK y  $T\gamma\delta$ , además se encontró que hay un incremento significativo en el porcentaje de células T ( $p=0.0413$ ) así mismo se encontró que las células T CD4+ expresan significativamente más IGFR-1 en pacientes con SpA a diferencia de los controles ( $p=0.0391$ ), en este sentido autores como Kooijman *et al.* (1992) han estudiado la expresión de IGFR1 en células mononucleares de sangre periférica encontrando que en condiciones fisiológicas se detectaron números relativamente altos de receptores en monocitos, células NK y células T CD4+ y un número intermedio de receptores en células T supresoras/citotóxicas CD8+ (Kooijman *et al.*, 1992). Además, se sabe que, en algunos casos la desregulación del sistema IGF se ha relacionado directamente con una función alterada de las células T CD4+. Algunos pacientes con estas afecciones desarrollan autoanticuerpos activadores contra IGF1-R, y se ha demostrado que estos anticuerpos suprimen la apoptosis en las células T CD4+ (Douglas *et al.*, 2007).

Debido a los resultados obtenidos se espera que las poblaciones CD4+ que expresan IGFR-1 puedan diferenciarse a un fenotipo tipo Th17, de acuerdo con los resultados de DiToro *et al.* (2020) la señalización del receptor IGFR-1 es capaz de favorecer un cambio fenotípico en las células T, hacia un perfil proinflamatorio Th17 (con inhibición del perfil anti-inflamatorio de células Treg). Este perfil Th17 es altamente relacionado con la inflamación articular en SpA (DiToro *et al.*, 2020). Además, la expresión alterada de los componentes del sistema IGF se observa en múltiples patologías que involucran un desequilibrio de las células Th17-Treg, como la AR (Pritchard *et al.*, 2004)

Si bien, no se encontraron diferencias significativas en todos los tipos celulares estudiados, se sabe que IGFR-1, tiene acción en el sistema inmune, por lo tanto, podría participar en enfermedades inmunes como la SpA y funcionar como diana terapéutica para la misma enfermedad. Los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I 1 e IGF-II), sus proteínas de unión (IGFBP) y los receptores que

median su señalización (tipos I y II IGFR-1), desempeñan funciones críticas en el desarrollo normal, el crecimiento óseo, el metabolismo de carbohidratos, y homeostasis en general (Adams *et al.*, 2000; De Meyts and Whittaker, 2002).

IGFR-1 parece tener impacto sobre la apoptosis hepática, la infiltración de neutrófilos en hígado (Hijikawa *et al.*, 2008). Además, se ha demostrado que, en pacientes con quemaduras, la administración del receptor IGFR-1 tiene efectos en la reducción de niveles séricos de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  y proteína C reactiva (Jeschke, Barrow and Herndon, 2000), además los niveles circulantes de IGF-I se correlacionan inversamente con la velocidad de sedimentación globular y la proteína C reactiva en pacientes con colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn (Street *et al.*, 2004).

Así mismo, IGF-I y el IGF-II parecen modificar varios aspectos de la inflamación, al menos en parte al influir en las acciones de las citocinas y otros mediadores de moléculas pequeñas. Estos mismos mediadores pueden a su vez alterar la abundancia de IGF-I y modular sus acciones sobre los tejidos diana (Smith, 2010). Es así que, se espera próximamente aumentar la población de pacientes con JoSpA para identificar el papel de la vía IGF-IGFR-1 en pacientes con SpA de inicio juvenil y de inicio adulto, así mismo se buscará la relación de IGFR-1 con la secreción de IL-17 e IL-22 en linfocitos T aislados a partir de muestras de sangre y líquido sinovial.

## Conclusiones

- La alta expresión de IGFR-1 en linfocitos CD4+ y la alta frecuencia de linfocitos totales positivos a IGFR-1 indica una alteración de esta vía en los pacientes, lo que se podría relacionar con un papel de IGFR-1 en la inflamación mediada por células T.
- Se encontró una correlación clínica negativa en cuanto al incremento de la intensidad media de fluorescencia de IGFR-1 en linfocitos T de pacientes con relación a los meses de evolución, lo cual indicaría que, en pacientes con menor tiempo de evolución de la enfermedad, se encontraría una mayor expresión de IGFR-1 en linfocitos T, aumentando el efecto de IGF-1 en estas células y propiciando su efecto inflamatorio en pacientes con menor evolución de la enfermedad.

## Referencias

- Adams, T.E. *et al.* (2000) 'Structure and function of the type 1 insulin-like growth factor receptor', *Cellular and molecular life sciences: CMLS*, 57(7), pp. 1050–1093. Available at: <https://doi.org/10.1007/PL00000744>.
- Akkoc, N. *et al.* (2005) 'Overestimation of the prevalence of ankylosing spondylitis in the Berlin study: comment on the article by Braun *et al.*', *Arthritis and rheumatism*, 52(12), pp. 4048–4049. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.21492>.
- Appel, H. *et al.* (2011) 'Analysis of IL-17(+) cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response', *Arthritis research & therapy*, 13(3). Available at: <https://doi.org/10.1186/AR3370>.
- Baeten, D. *et al.* (2018) 'Risankizumab, an IL-23 inhibitor, for ankylosing spondylitis: results of a randomised, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept, dose-finding phase 2 study', *Annals of the rheumatic diseases*, 77(9), pp. 1295–1302. Available at: <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2018-213328>.
- Ball, J. (1971) 'Enthesopathy of rheumatoid and ankylosing spondylitis.', *Annals of the rheumatic diseases*, 30(3), pp. 213–223. Available at: <https://doi.org/10.1136/ard.30.3.213>.
- Baraliakos, X. *et al.* (2008) 'The relationship between inflammation and new bone formation in patients with ankylosing spondylitis', *Arthritis Research and Therapy*, 10(5), pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.1186/AR2496/TABLES/2>.
- Van Bezooijen, R.L. *et al.* (2004) 'Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist', *The Journal of experimental medicine*, 199(6), pp. 805–814. Available at: <https://doi.org/10.1084/JEM.20031454>.
- Boskey, A.L. and Posner, A.S. (1985) 'Bone structure, composition, and mineralization', *Clinics in Podiatry*, 2(4), pp. 709–724. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0030-5898\(20\)31258-x](https://doi.org/10.1016/s0030-5898(20)31258-x).
- Boström, E.A. *et al.* (2011) 'Resistin and insulin/insulin-like growth factor signaling in rheumatoid arthritis', *Wiley Online Library*, 63(10), pp. 2894–2904. Available at: <https://doi.org/10.1002/art.30527>.
- Boyce, B.F. and Xing, L. (2007) 'Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin', *Arthritis research & therapy*, 9 Suppl 1(Suppl 1). Available at: <https://doi.org/10.1186/AR2165>.
- Boyle, W.J., Simonet, W.S. and Lacey, D.L. (2003) 'Osteoclast differentiation and activation', *Nature*, 423(6937), pp. 337–342. Available at: <https://doi.org/10.1038/NATURE01658>.
- Burgos-Vargas, R. (2002) 'The juvenile-onset spondyloarthritis', *Rheumatic diseases clinics of North America*, 28(3), pp. 531–560. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0889-857X\(02\)00033-9](https://doi.org/10.1016/S0889-857X(02)00033-9).
- Burgos-Vargas, R. (2012) 'The assessment of the spondyloarthritis international society concept and criteria for the classification of axial spondyloarthritis and peripheral spondyloarthritis: A critical appraisal for the pediatric rheumatologist', *Pediatric Rheumatology Online Journal*, 10, p. 14. Available at: <https://doi.org/10.1186/1546-0096-10-14>.
- Burgos-Vargas, R. and Granados- Arriola, J. (1990) *Ankylosing spondylitis and related diseases in the Mexican Mestizo, Spine*. Available at: [https://www.researchgate.net/publication/284610086\\_Ankylosing\\_spondylitis\\_and\\_related\\_diseases\\_in\\_the\\_Mexican\\_Mestizo](https://www.researchgate.net/publication/284610086_Ankylosing_spondylitis_and_related_diseases_in_the_Mexican_Mestizo) (Accessed: 3 August 2023).

Burgos-Vargas, R., Pacheco-Tena, C. and Vázquez-Mellado, J. (2002) 'A short-term follow-up of enthesitis and arthritis in the active phase of juvenile onset spondyloarthropathies', *Clin Exp Rheumatol* [Preprint].

Calin, A. *et al.* (1994) 'A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index.', *The Journal of Rheumatology*, 21(12), pp. 2281–2285. Available at: <https://doi.org/10.3109/9780203214237-70>.

Carmichael, J. (2021) *Gigantismo y acromegalia - Trastornos endocrinológicos y metabólicos - Manual MSD versión para profesionales*. Available at: <https://www.msdmanuals.com/es-mx/professional/trastornos-endocrinol%C3%B3gicos-y-metab%C3%B3licos/trastornos-hipofisarios/gigantismo-y-acromegalia> (Accessed: 28 July 2022).

Charoenlarp, P., Rajendran, A.K. and Iseki, S. (2017) 'Role of fibroblast growth factors in bone regeneration', *Inflammation and Regeneration*, 37(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/S41232-017-0043-8>.

Chowdhury, A.C. *et al.* (2017) 'IL-17 and IFN- $\gamma$  producing NK and  $\gamma\delta$ -T cells are preferentially expanded in synovial fluid of patients with reactive arthritis and undifferentiated spondyloarthritis', *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 183, pp. 207–212. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.CLIM.2017.03.016>.

Cortes, A. *et al.* (2013) 'Identification of multiple risk variants for ankylosing spondylitis through high-density genotyping of immune-related loci', *Nature genetics*, 45(7), p. 730. Available at: <https://doi.org/10.1038/NG.2667>.

Cortes, A. *et al.* (2015) 'Major histocompatibility complex associations of ankylosing spondylitis are complex and involve further epistasis with ERAP1', *Nature Communications*, 6. Available at: <https://doi.org/10.1038/NCOMMS8146>.

Dashti, N. *et al.* (2018) 'HLA-B\*27 subtypes and their implications in the pathogenesis of ankylosing spondylitis', *Gene*, 670, pp. 15–21. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2018.05.092>.

Descamps, E. *et al.* (2021) 'Changes in bone formation regulator biomarkers in early axial spondyloarthritis', *Rheumatology (United Kingdom)*, 60(3), pp. 1185–1194. Available at: <https://doi.org/10.1093/RHEUMATOLOGY/KEAA296>.

DiToro, D. *et al.* (2020) 'Insulin-like Growth Factors are Key Regulators of T helper 17-Regulatory T Cell Balance in Autoimmunity', *Immunity*, 52(4), p. 650. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2020.03.013>.

Dougados, M. and Baeten, D. (2011) 'Spondyloarthritis', *The Lancet*, 377(9783), pp. 2127–2137. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60071-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60071-8).

Douglas, R.S. *et al.* (2007) 'Aberrant expression of the insulin-like growth factor-1 receptor by T cells from patients with Graves' disease may carry functional consequences for disease pathogenesis', *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 178(5), pp. 3281–3287. Available at: <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.178.5.3281>.

Erlandsson, M.C. *et al.* (2017) 'IGF-1R signalling contributes to IL-6 production and T cell dependent inflammation in rheumatoid arthritis', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(9), pp. 2158–2170. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2017.06.002>.

Flatø, B. *et al.* (2006) 'Long-term outcome and prognostic factors in enthesitis-related arthritis: a case-control study', *Arthritis and rheumatism*, 54(11), pp. 3573–3582. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.22181>.

Fortier, L.A. *et al.* (2002) 'Insulin-like growth factor-I enhances cell-based repair of articular cartilage', *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, 84(2), pp. 276–288. Available at: <https://doi.org/10.1302/0301-620X.84B2.11167>.

Galocha, B. and López De Castro, J.A. (2010) 'Mutational Analysis Reveals a Complex Interplay of Peptide Binding and Multiple Biological Features of HLA-B27', *The Journal of Biological Chemistry*, 285(50), p. 39180. Available at: <https://doi.org/10.1074/JBC.M110.149906>.

Garrett, S. *et al.* (1994) 'A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index.', *The Journal of rheumatology* [Preprint].

Giustina, A., Mazziotti, G. and Canalis, E. (2008) 'Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton', *Endocrine Reviews*, pp. 535–559. Available at: <https://doi.org/10.1210/er.2007-0036>.

Gmuca, S. *et al.* (2017) 'Multicenter inception cohort of enthesitis-related arthritis: variation in disease characteristics and treatment approaches', *Arthritis research & therapy*, 19(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/S13075-017-1297-X>.

Gracey, E. *et al.* (2016) 'Sexual Dimorphism in the Th17 Signature of Ankylosing Spondylitis', *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 68(3), pp. 679–689. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.39464>.

Hijikawa, T. *et al.* (2008) 'Insulin-like growth factor 1 prevents liver injury through the inhibition of TNF-alpha and iNOS induction in D-galactosamine and LPS-treated rats', *Shock (Augusta, Ga.)*, 29(6), pp. 740–747. Available at: <https://doi.org/10.1097/SHK.0B013E31815D0780>.

Hjortebjerg, R. (2018) 'IGFBP-4 and PAPP-A in normal physiology and disease', *Growth Hormone & IGF Research*, 41, pp. 7–22. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.GHIR.2018.05.002>.

Hoshi, K., Komori, T. and Ozawa, H. (1999) 'Morphological characterization of skeletal cells in Cbfa1-deficient mice', *Bone*, 25(6), pp. 639–651. Available at: [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(99\)00223-9](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(99)00223-9).

Jamalyaria, F. *et al.* (2017) 'Ethnicity and disease severity in ankylosing spondylitis a cross-sectional analysis of three ethnic groups', *Clinical rheumatology*, 36(10), p. 2359. Available at: <https://doi.org/10.1007/S10067-017-3767-6>.

Jeschke, M.G., Barrow, R.E. and Herndon, D.N. (2000) 'Insulinlike growth factor I plus insulinlike growth factor binding protein 3 attenuates the proinflammatory acute phase response in severely burned children', *Annals of surgery*, 231(2), pp. 246–252. Available at: <https://doi.org/10.1097/00000658-200002000-00014>.

Jimenez-Balderas, F.J. *et al.* (1990) 'Ovarian function studies in active ankylosing spondylitis in women. Clinical response to estrogen therapy.', *The Journal of Rheumatology*, 17(4), pp. 497–502. Available at: <https://europepmc.org/article/med/2348430> (Accessed: 14 November 2022).

Klingberg, E. *et al.* (2014) 'Biomarkers of bone metabolism in ankylosing spondylitis in relation to osteoproliferation and osteoporosis', *Journal of Rheumatology*, 41(7), pp. 1349–1356. Available at: <https://doi.org/10.3899/jrheum.131199>.

Kooijman, R. *et al.* (1992) 'Expression of type I insulin-like growth factor receptors on human peripheral blood mononuclear cells', *Endocrinology*, 131(5), pp. 2244–2250. Available at: <https://doi.org/10.1210/ENDO.131.5.1425423>.

Kwon, S.-R. *et al.* (2012) 'Dickkopf-1 level is lower in patients with ankylosing spondylitis

than in healthy people and is not influenced by anti-tumor necrosis factor therapy', *Rheumatol Int*, 32, pp. 2523–2527. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00296-011-1981-0>.

Longobardi, L. *et al.* (2006) 'Effect of IGF-I in the chondrogenesis of bone marrow mesenchymal stem cells in the presence or absence of TGF-beta signaling', *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 21(4), pp. 626–636. Available at: <https://doi.org/10.1359/JBMR.051213>.

López-Larrea, C. *et al.* (1995) 'Characterization of B27 haplotypes by oligotyping and genomic sequencing in the Mexican Mestizo population with ankylosing spondylitis: Juvenile and adult onset', *Human Immunology*, 43(3), pp. 174–180. Available at: [https://doi.org/10.1016/0198-8859\(94\)00156-K](https://doi.org/10.1016/0198-8859(94)00156-K).

Lukas, C. *et al.* (2009) 'Development of an ASAS-endorsed disease activity score (ASDAS) in patients with ankylosing spondylitis', *Annals of the Rheumatic Diseases*, 68(1), pp. 18–24. Available at: <https://doi.org/10.1136/ARD.2008.094870>.

Maksymowych, W.P. *et al.* (2009) 'Inflammatory lesions of the spine on magnetic resonance imaging predict the development of new syndesmophytes in ankylosing spondylitis: evidence of a relationship between inflammation and new bone formation', *Arthritis and rheumatism*, 60(1), pp. 93–102. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.24132>.

Marzo-Ortega, H. *et al.* (2020) '5-year efficacy and safety of secukinumab in patients with ankylosing spondylitis: end-of-study results from the phase 3 MEASURE 2 trial', *The Lancet Rheumatology*, 2(6), pp. e339–e346. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2665-9913\(20\)30066-7](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(20)30066-7).

Masi, A.T. (1992) 'DO SEX HORMONES PLAY A ROLE IN ANKYLOSING SPONDYLITIS?', *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 18(1), pp. 153–176. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0889-857X\(21\)00715-8](https://doi.org/10.1016/S0889-857X(21)00715-8).

McGonagle, D. *et al.* (2021) 'Why Inhibition of IL-23 Lacked Efficacy in Ankylosing Spondylitis', *Frontiers in immunology*, 12. Available at: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.614255>.

van Mens, L.J.J. *et al.* (2018) 'Brief Report: Interleukin-17 Blockade With Secukinumab in Peripheral Spondyloarthritis Impacts Synovial Immunopathology Without Compromising Systemic Immune Responses', *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 70(12), pp. 1994–2002. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.40581>.

De Meyts, P. and Whittaker, J. (2002) 'Structural biology of insulin and IGF1 receptors: implications for drug design', *Nature reviews. Drug discovery*, 1(10), pp. 769–783. Available at: <https://doi.org/10.1038/NRD917>.

Niemann, I. *et al.* (2013) 'The association between insulin-like growth factor I and bone turnover markers in the general adult population', *Bone*, 56(1), pp. 184–190. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BONE.2013.06.013>.

Pelaez-Ballestas, I. *et al.* (2006) 'Illness trajectories in Mexican children with juvenile idiopathic arthritis and their parents', *Rheumatology*, 45(11), pp. 1399–1403. Available at: <https://doi.org/10.1093/RHEUMATOLOGY/KEL122>.

Peláez-Ballestas, I. *et al.* (2013) 'A community-based study on the prevalence of spondyloarthritis and inflammatory back pain in Mexicans', *Journal of clinical rheumatology: practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases*, 19(2), pp. 57–61. Available at: <https://doi.org/10.1097/RHU.0B013E3182862E65>.

Perrotta, F.M. *et al.* (2018) 'Serum Sclerostin as a Possible Biomarker in Ankylosing

Spondylitis: A Case-Control Study'. Available at: <https://doi.org/10.1155/2018/9101964>.

Rahman, P. *et al.* (2008) 'Association of interleukin-23 receptor variants with ankylosing spondylitis', *Arthritis and rheumatism*, 58(4), pp. 1020–1025. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.23389>.

Reinhardt, A. *et al.* (2016a) 'Interleukin-23-Dependent  $\gamma/\delta$  T Cells Produce Interleukin-17 and Accumulate in the Enthesis, Aortic Valve, and Ciliary Body in Mice', *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 68(10), pp. 2476–2486. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.39732>.

Reinhardt, A. *et al.* (2016b) 'Interleukin-23-Dependent  $\gamma/\delta$  T Cells Produce Interleukin-17 and Accumulate in the Enthesis, Aortic Valve, and Ciliary Body in Mice', *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 68(10), pp. 2476–2486. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.39732>.

Reveille, J.D. *et al.* (2019a) 'HLA Class I and II Alleles in Susceptibility to Ankylosing Spondylitis', *Annals of the rheumatic diseases*, 78(1), p. 66. Available at: <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2018-213779>.

Reveille, J.D. *et al.* (2019b) 'HLA Class I and II Alleles in Susceptibility to Ankylosing Spondylitis', *Annals of the rheumatic diseases*, 78(1), p. 66. Available at: <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2018-213779>.

Reyes-Cordero, G. *et al.* (2021) 'Recommendations of the Mexican College of Rheumatology for the Management of Spondyloarthritis', *Reumatologia clinica*, 17(1), pp. 37–45. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.REUMA.2019.03.010>.

Robinson, P.C. *et al.* (2015) 'ERAP2 is associated with ankylosing spondylitis in HLA-B27-positive and HLA-B27-negative patients', *Annals of the rheumatic diseases*, 74(8), pp. 1627–1629. Available at: <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2015-207416>.

Romero-López, J.P. *et al.* (2021) 'Inflammatory Foot Involvement in Spondyloarthritis: From Tarsitis to Ankylosing Tarsitis', *Frontiers in Medicine*, 8, p. 1727. Available at: <https://doi.org/10.3389/FMED.2021.730273/BIBTEX>.

Rosenberg, A.M. and Petty, R.E. (1982) 'A syndrome of seronegative enthesopathy and arthropathy in children', *Arthritis and rheumatism*, 25(9), pp. 1041–1047. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.1780250902>.

Rudwaleit, M., Landewé, R., *et al.* (2009) '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*, 68(6), pp. 770–776. Available at: <https://doi.org/10.1136/ARD.2009.108217>.

Rudwaleit, M., Van Der Heijde, D., *et al.* (2009) 'The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection', *Annals of the rheumatic diseases*, 68(6), pp. 777–783. Available at: <https://doi.org/10.1136/ARD.2009.108233>.

Russell, A.S. and Almazor, M.E.S. (1992) 'ANKYLOSING SPONDYLITIS IS CAUSED BY KLEBSIELLA: Evidence from Immunogenetic, Microbiologic, and Serologic Studies', *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 18(1), pp. 105–121. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0889-857X\(21\)00712-2](https://doi.org/10.1016/S0889-857X(21)00712-2).

Schett, G. *et al.* (2009) 'Tumor necrosis factor alpha and RANKL blockade cannot halt bony spur formation in experimental inflammatory arthritis', *Arthritis and rheumatism*, 60(9), pp. 2644–2654. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.24767>.

Schett, G. *et al.* (2021) 'Secukinumab Efficacy on Enthesitis in Patients With Ankylosing

Spondylitis: Pooled Analysis of Four Pivotal Phase III Studies', *The Journal of rheumatology*, 48(8), pp. 1251–1258. Available at: <https://doi.org/10.3899/JRHEUM.201111>.

Sherlock, J.P. *et al.* (2012) 'IL-23 induces spondyloarthropathy by acting on ROR- $\gamma$ t+ CD3+CD4-CD8- enthesal resident T cells', *Nature medicine*, 18(7), pp. 1069–1076. Available at: <https://doi.org/10.1038/NM.2817>.

Smith, J.A. and Burgos-Vargas, R. (2021a) 'Outcomes in Juvenile-Onset Spondyloarthritis', *Frontiers in medicine*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/FMED.2021.680916>.

Smith, J.A. and Burgos-Vargas, R. (2021b) 'Outcomes in Juvenile-Onset Spondyloarthritis', *Frontiers in Medicine*, 8, p. 680916. Available at: <https://doi.org/10.3389/FMED.2021.680916>.

Smith, J.A. and Colbert, R.A. (2014) 'Review: The interleukin-23/interleukin-17 axis in spondyloarthritis pathogenesis: Th17 and beyond', *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*, 66(2), pp. 231–241. Available at: <https://doi.org/10.1002/ART.38291>.

Smith, T.J. (2010) 'Insulin-Like Growth Factor-I Regulation of Immune Function: A Potential Therapeutic Target in Autoimmune Diseases?', *Pharmacological Reviews*, 62(2), p. 199. Available at: <https://doi.org/10.1124/PR.109.002469>.

Street, M.E. *et al.* (2004) 'Relationships between serum IGF-1, IGFBP-2, interleukin-1beta and interleukin-6 in inflammatory bowel disease', *Hormone research*, 61(4), pp. 159–164. Available at: <https://doi.org/10.1159/000075699>.

Sudoł-Szopińska, I. *et al.* (2017) 'Imaging of juvenile spondyloarthritis. Part I: Classifications and radiographs', *Journal of Ultrasonography*, 17(70), p. 167. Available at: <https://doi.org/10.15557/JOU.2017.0025>.

Sun, W. *et al.* (2019) 'Sclerostin rather than Dickkopf-1 is associated with mSASSS but not with disease activity score in patients with ankylosing spondylitis'. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10067-018-4356-z>.

Tapia-Serrano, R. *et al.* (1991) 'Testicular function in active ankylosing spondylitis. Therapeutic response to human chorionic gonadotrophin.', *The Journal of Rheumatology*, 18(6), pp. 841–848. Available at: <https://europepmc.org/article/med/1843848> (Accessed: 14 November 2022).

Vargas-Valverde, M. (2018) 'Espondilitis anquilosante: una mirada inmunológica Ankylosing spondylitis: an immunological look', *Rev. Colegio de Microb. Quim. Clin. de Costa Rica*, 24(1), pp. 2215–3713.

Verschure, P.J. *et al.* (1995) 'Chondrocyte IGF-1 receptor expression and responsiveness to IGF-1 stimulation in mouse articular cartilage during various phases of experimentally induced arthritis.', *ard.bmj.com*, 54, pp. 645–653. Available at: <https://doi.org/10.1136/ard.54.8.645>.

Watad, A. *et al.* (2020) 'Normal human enthesis harbours conventional CD4+ and CD8+ T cells with regulatory features and inducible IL-17A and TNF expression', *Annals of the rheumatic diseases*, 79(8), pp. 1044–1054. Available at: <https://doi.org/10.1136/ANNRHEUMDIS-2020-217309>.

Weiβ, A. *et al.* (2017) 'Course of patients with juvenile spondyloarthritis during 4 years of observation, juvenile part of GESPIC', *RMD open*, 3(1). Available at: <https://doi.org/10.1136/RMDOPEN-2016-000366>.

Weiss, P.F. *et al.* (2012) 'Enthesitis-related arthritis is associated with higher pain intensity and poorer health status in comparison with other categories of juvenile idiopathic arthritis: the Childhood Arthritis and Rheumatology Research Alliance Registry', *The*



*Journal of rheumatology*, 39(12), pp. 2341–2351. Available at: <https://doi.org/10.3899/JRHEUM.120642>.

Xie, W. *et al.* (2015) 'Wnt/B-catenin signaling plays a key role in the development of spondyloarthritis', *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1364, pp. 25–31. Available at: <https://doi.org/10.1111/nyas.12968>.

Xie, W. *et al.* (2016) 'Wnt/ $\beta$ -catenin signaling plays a key role in the development of spondyloarthritis', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1364(1), pp. 25–31. Available at: <https://doi.org/10.1111/NYAS.12968>.

Zaidi, M. (2007) 'Skeletal remodeling in health and disease', *Nature medicine*, 13(7), pp. 791–801. Available at: <https://doi.org/10.1038/NM1593>.

Zhang, L. *et al.* (2016) 'Serum DKK-1 level in the development of ankylosing spondylitis and rheumatic arthritis: a meta-analysis', *Experimental & Molecular Medicine*, p. 48. Available at: <https://doi.org/10.1038/emm.2016.12>.

# Anexos

## Formulario para la recolección de datos en pacientes con Espondiloartritis axial y periférica

### Anexo 1.

#### Datos demográficos y clínicos recogidos por el investigador

Fecha de la visita de escrutinio:	____/____/____ DD MM AAAA
Fecha de toma de muestra:	____/____/____ DD MM AAAA
Iniciales del paciente (apellidos, nombre(s)) y número de paciente progresivo (01, 02...):	[____/____/____][____/____] (Ejemplo: AMG01) APELLIDOS y NOMBRE # DE PACIENTE
Número de expediente	

Fecha de nacimiento \_\_/\_\_/\_\_

Edad: \_\_ años

Sexo: Masculino / Femenino

Estado de procedencia: \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Correo Electrónico: \_\_\_\_\_

Escolaridad: \_\_\_\_\_

Estado Civil: \_\_\_\_\_

Grupo étnico: Mestizo / Caucásico / Negro / Indígena / Desconoce

Actividad Física: Si / No

Actividad física realizada: \_\_\_\_\_

Tiempo destinado a la actividad física: \_\_\_\_\_ (Días, semanas, meses o años)

Tipo: Alto impacto / Bajo impacto

Tratamiento actual del paciente: Si / No

AINE Si / No

Sulfazalazina Si / No

Antimalaricos Si / No

Anti TNF Si / No

Anti IL-17 Si / No

Esteroides Si / No

Metrotexato Si / No

Anexo 2.

Antecedentes relacionados con la enfermedad

Antecedentes familiares de primer grado	Antecedentes familiares de segundo grado
No	No
Desconoce	Desconoce
Artritis Psoriásica	Artritis Psoriásica
Artritis Reactiva	Artritis Reactiva
Espondiloartritis Anquilosante	Espondiloartritis Anquilosante
Espondiloartritis Juvenil	Espondiloartritis Juvenil
Espondiloartritis Axial	Espondiloartritis Axial
Espondiloartritis Periférica	Espondiloartritis Periférica
Uveítis	Uveítis
CUCI	CUCI
Crohn	Crohn
Lumbalgia Inflamatoria Crónica	Lumbalgia Inflamatoria Crónica
Factor Reumatoide positivo	Factor Reumatoide positivo
HLA-B27 positivo	HLA-B27 positivo
Otro: _____	Otro: _____

**Tóxicos**

Alcoholismo	Tabaquismo	Otros
No. de copas por mes: _____	No. de cigarrillos por mes: _____	Especifique tipo de droga: _____
Años de consumo: _____	Años de consumo: _____	Cuánto consume por mes: _____
Negado	Negado	Años de consumo: _____
		Negado

**Comorbilidades**

Obesidad	Si / No	Años de evolución: _____	Controlada / Descontrolada
Diabetes	Si / No	Años de evolución: _____	Controlada / Descontrolada
Hipertensión	Si / No	Años de evolución: _____	Controlada / Descontrolada
Cáncer	Si / No	Años de evolución: _____	Controlada / Descontrolada
Osteoporosis	Si / No	Años de evolución: _____	Controlada / Descontrolada
Cardiopatías	Si / No	Años de evolución: _____	Controlada / Descontrolada
Otra: _____		Años de evolución: _____	Controlada / Descontrolada
Antecedentes de traumatismos	Si / No	Tipo: _____	Tratamiento: _____
Antecedentes quirúrgicos	Si / No	Tipo: _____	
Antecedentes de alergias	Si / No	Tipo: _____	
Utilización de esteroides	Si / No	Tipo: _____	

**Enfermedades**

¿Cuál es la enfermedad que describe a su paciente? (Es posible marcar más de una opción)

Artritis Psoriásica

Artritis Reactiva

Espondiloartritis Anquilosante

Espondiloartritis Juvenil

Espondiloartritis Periférica

Uveítis

CUCI / Crohn

Otra: \_\_\_\_\_

Fecha de diagnóstico: \_\_\_\_\_



Anexo 3.

Síntomas y signos actuales o pasados

Síntomas y Signos	
Síntomas $\geq 3$ meses de duración	Si / No
Lumbalgia	Si / No
Edad al inicio <45 años	Si / No
Artritis	Actual / Pasado / Nunca
Entesitis	Actual / Pasado / Nunca
Dactilitis	Actual / Pasado / Nunca
Tarsitis	Actual / Pasado / Nunca
Uveítis anterior	Actual / Pasado / Nunca
Crohn o CUCI	Actual / Pasado / Nunca
Psoriasis	Actual / Pasado / Nunca
Hallazgos por radiografía	
Sacroilitis (al menos grado II bilateral o grado III unilateral)	Si: _____ (especifique) / No
Evidencia radiológica de formación ósea en márgenes de la articulación	Si: _____ (especifique) / No
Escala SpA-TRI	
Hallazgos por RM	
Edema oseo en secuencia STIR	Si: _____ (especifique) / No
Inflamación en vainas tendinosas	Si: _____ (especifique) / No
Señales de hiperintensidad en articulaciones	Si: _____ (especifique) / No
Sacroilitis	Si / No
Entesitis	Si / No
Dactilitis	Si / No
Tarsitis	Si / No
Laboratorios	
HLA-B27 positivo	Si / No
Factor reumatoide	Si / No
PCR por encima del límite normal	Si: _____ (cuantificación y fecha) / No
VSG	Si: _____ (cuantificación y fecha) / No

Anexo 4.

**Criterios de ASAS para Espondiloartritis Axial**

**Modalidad de imagen:**

● Sacroiliítis radiográfica:

≥2 bilateral:  Si Grados: Lado der \_\_\_ Lado izq \_\_\_

No

≥3 unilateral:  Si Grados: Lado der \_\_\_ Lado izq \_\_\_

No

● Sacroiliítis/edema óseo en la secuencia STIR de la RM:

Si

No

**Modalidad clínica:**

HLA-B27 positivo:

Si

No

No hecho

Lista (≥ 1 de los siguientes)

Dolor dorsolumbar inflamatorio	Si	No
Artritis	Si	No
Entesitis (talón)	Si	No
Uveítis	Si	No
Dactilitis	Si	No
Psoriasis	Si	No
Enf Crohn's/colitis ulcerosa	Si	No
Buena respuesta a AINE	Si	No
Historia familiar de SpA	Si	No
HLA-B27	Si	No
Elevación de PCR	Si	No

Lista (≥ 2 de los siguientes)

Dolor dorsolumbar inflamatorio	Si	No
Artritis	Si	No
Entesitis (talón)	Si	No
Uveítis	Si	No
Dactilitis	Si	No
Psoriasis	Si	No
Enf Crohn's/colitis ulcerosa	Si	No
Buena respuesta a AINE	Si	No
Historia familiar de SpA	Si	No
HLA-B27	Si	No
Elevación de PCR	Si	No

Anexo 5.

Índice de la actividad de la enfermedad ASDAS-PCR

- Dolor lumbar (0-10)                       Dolor / tumefacción periférica (0-10)  
 Duración de la rigidez matutina (0-10)                       Proteína C reactiva (mg/l)  
 Evaluación global del paciente (0-10)

Por favor, ponga una cruz en el número que mejor represente el nivel con el que usted se sienta mayormente identificado, durante la semana pasada

1. ¿Cuánto dolor ha tenido en la zona lumbar?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Ausente

Muy intenso

2. ¿Cuánto le dura la rigidez matutina?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Poco tiempo

Mucho tiempo

3. ¿Cuál es la evaluación global del paciente de la actividad de la enfermedad?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Leve

Grave

4. ¿Cuánto dolor o tumefacción suele tener en sitios periféricos?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Poco

Mucho

4. ¿Qué cantidad de Proteína C reactiva presenta el paciente en sangre periférica?

Anexo 6.

Manifestaciones articulares y extra-articulares

Manifestaciones extra-articulares		
Manifestación	Especificación	Tratamiento
Uveítis	¿Ha presentado episodio de uveítis? Si / No ¿Fue diagnosticado por el oftalmólogo? Si / No ¿En qué fecha? __ / __ / __ ¿Le dieron tratamiento? Si / No	-AINE sistémico: _____ -Gotas oftálmicas de AINE: _____ -Gotas oftálmicas de corticoesteroide: _____ -Glucocorticoides sistémicos: _____ -Farme clásico: _____ -Farme biológico: _____ -Otro: _____
Psoriasis	¿Ha presentado episodio de psoriasis? Si / No ¿Fue diagnosticado por el dermatólogo? Si / No ¿En qué fecha? __ / __ / __ ¿Le dieron tratamiento? Si / No	-Aplicación local de corticoesteroides: _____ -Terapia PUVA: _____ -Farme clásico: _____ -Farme biológico: _____ -Otro: _____
Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII)	¿Ha presentado episodio de EII? Si / No ¿Fue diagnosticado por colonoscopia? Si / No ¿En qué fecha? __ / __ / __ ¿Le dieron tratamiento? Si / No	-Esteroides vía rectal: _____ -Compuestos 5-ASA: _____ -Corticoesteroides orales: _____ -Farme clásico: _____ -Farme biológico: _____ -Otro: _____

Manifestaciones articulares		
Hombros	¿Ha presentado compromiso articular de hombros? Si / No Bilateral / Unilateral ¿En qué fecha? __ / __ / __	-AINE sistémico: _____ -Farme clásico: _____ -Farme biológico: _____ -Otro: _____
Cadera	¿Ha presentado compromiso de la articulación de cadera? Si / No Bilateral / Unilateral ¿En qué fecha? __ / __ / __	-AINE sistémico: _____ -Farme clásico: _____ -Farme biológico: _____ -Otro: _____
Artritis	¿Ha presentado algún episodio de artritis? Si / No ¿En qué región(es) del cuerpo? _____ ¿Fue identificada por el reumatólogo? Si / No ¿Cómo suele presentarse? Transitorio / Continuo / Intermitente	-AINE sistémico: _____ -Farme clásico: _____ -Farme biológico: _____ -Otro: _____



Anexo 7.

Conteo articular de los miembros inferiores

Conteo articular de los miembros inferiores												
Articulación	Derecha						Izquierda					
	Dolor		Inflamación		Disminución de la movilidad		Dolor		Inflamación		Disminución de la movilidad	
	Si	No	-----		Si	No	Si	No	-----		Si	No
Coxofemoral	Si	No	-----		Si	No	Si	No	-----		Si	No
Rodilla	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
Tobillo	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
Tarso	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
MTF1	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
MTF2	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
MTF3	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
MTF4	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
MTF5	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
Sacroiliaca	Si	No	-----		-----		Si	No	-----		-----	

Anexo 8.

**INDICE FUNCIONAL BASFI**

Por favor ponga una cruz en el número que mejor represente el nivel de habilidad que tuvo usted en cada una de las siguientes actividades, durante la semana pasada

1. *Ponerse las medias o los calcetines sin ayuda ni aparatos (ej. un gancho para los calcetines)*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

2. *Inclinarse hacia delante, doblando la cintura, para recoger una pluma del piso, sin ayuda de un aparato*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

3. *Alcanzar algo que se encuentra en una repisa (estante) alta sin ayuda o aparatos (ej. un jalador)*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

4. *Levantarse de una silla que no tenga apoya-brazos, sin usar sus manos ni ninguna otra ayuda*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

5. *Levantarse del piso sin ayuda, estando acostado en el suelo boca arriba*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

6. *Estar parado sin apoyo por 10 minutos, sin molestias*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

7. *Subir de 12 a 15 escalones sin usar el pasamanos ni una andadera, subiendo los escalones de uno en uno*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

8. *Mirar por encima del hombro sin girar su cuerpo*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

9. *Hacer actividades que necesiten un gran esfuerzo físico (por ejemplo ejercicios de fisioterapia, jardinería y deportes)*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible

10. *Hacer actividades que duren todo el día, sea en casa o en el trabajo*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

fácil

imposible



Anexo 9.

**INDICE DE ACTIVIDAD (BASDAI)**

Por favor marque con una cruz en cada una de las escalas de abajo, para indicar las respuestas relacionadas a cómo se sintió usted la semana pasada.

1. ¿Cómo describiría el grado de cansancio o fatiga que ha tenido?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Nada muy intenso

2. ¿Qué tanto dolor ha tenido por su enfermedad en el cuello, la espalda o la cadera?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Nada muy intenso

3. ¿Qué tanto dolor o inflamación ha tenido en otras articulaciones, diferentes al cuello, la espalda o la cadera?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Nada muy intenso

4. ¿Qué tanto malestar ha tenido en sitios que duelen al tocar o al presionar?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Nada muy intenso

5. ¿Qué tanta rigidez ha tenido en la mañana desde el momento que se despierta?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Nada muy intenso

6. ¿Cuánto le dura esa rigidez?

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

0 horas 1 hora 2 horas o más

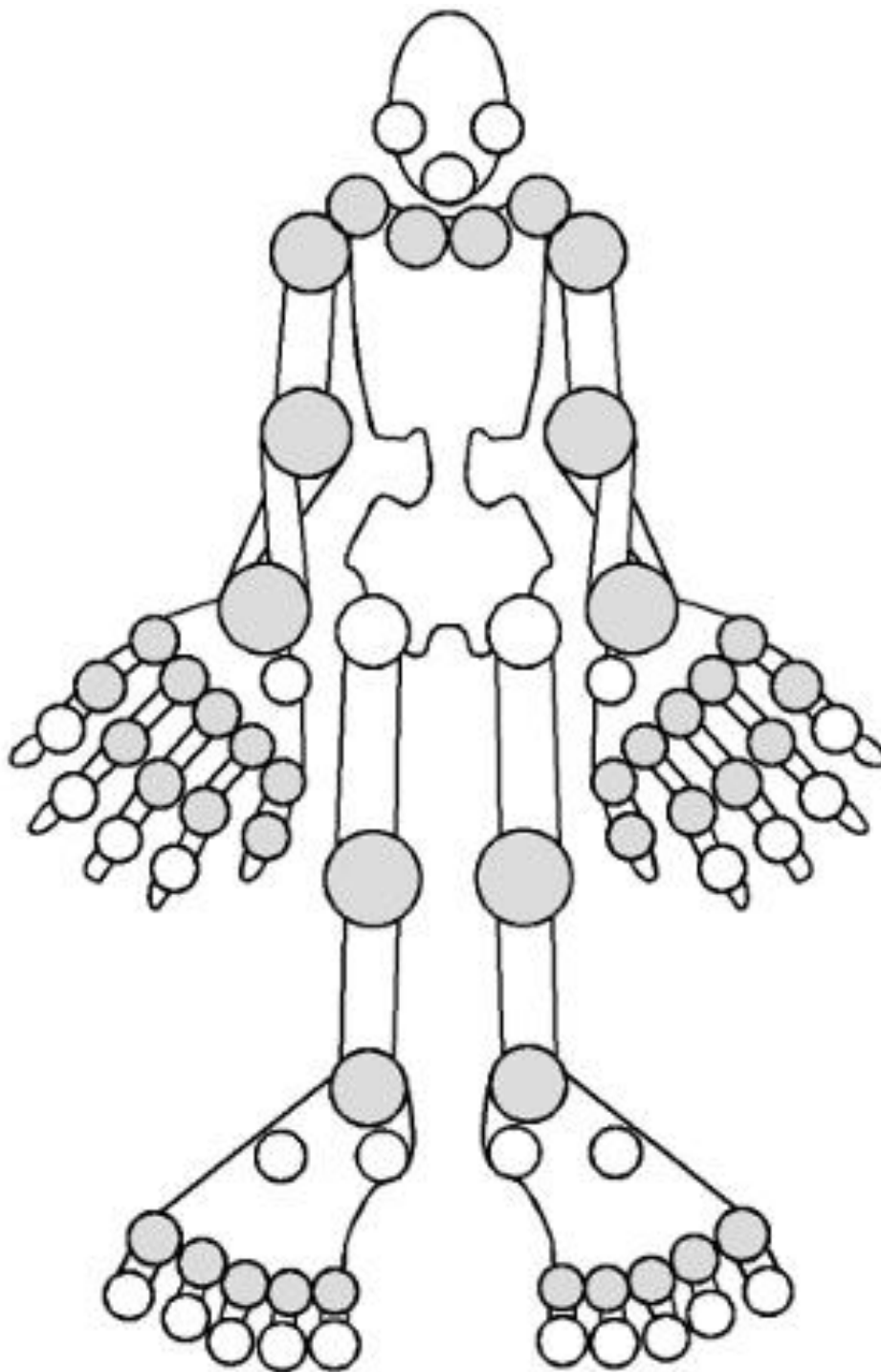
Anexo 10.

INDICE DE MOVILIDAD (BASMI)

<b>Columna cervical</b>	<i>Flexión</i>		
	<i>Extensión</i>		
	<i>Rotación</i>		
	<i>Distancia occipucio- pared</i>		
	<i>Distancia trago-pared</i>		
<b>Columna dorsolumbar</b>	<i>Flexión anterior</i>		
	<i>Shöber modificado</i>		
	<i>Distancia dedo-piso</i>		
	<i>Flexión lateral</i>		
	<i>Expansión torácica</i>		
<b>Cadera</b>	<i>Distancia intermaleolar</i>		
	<i>Rotación interna de cadera</i>		

Anexo 11.

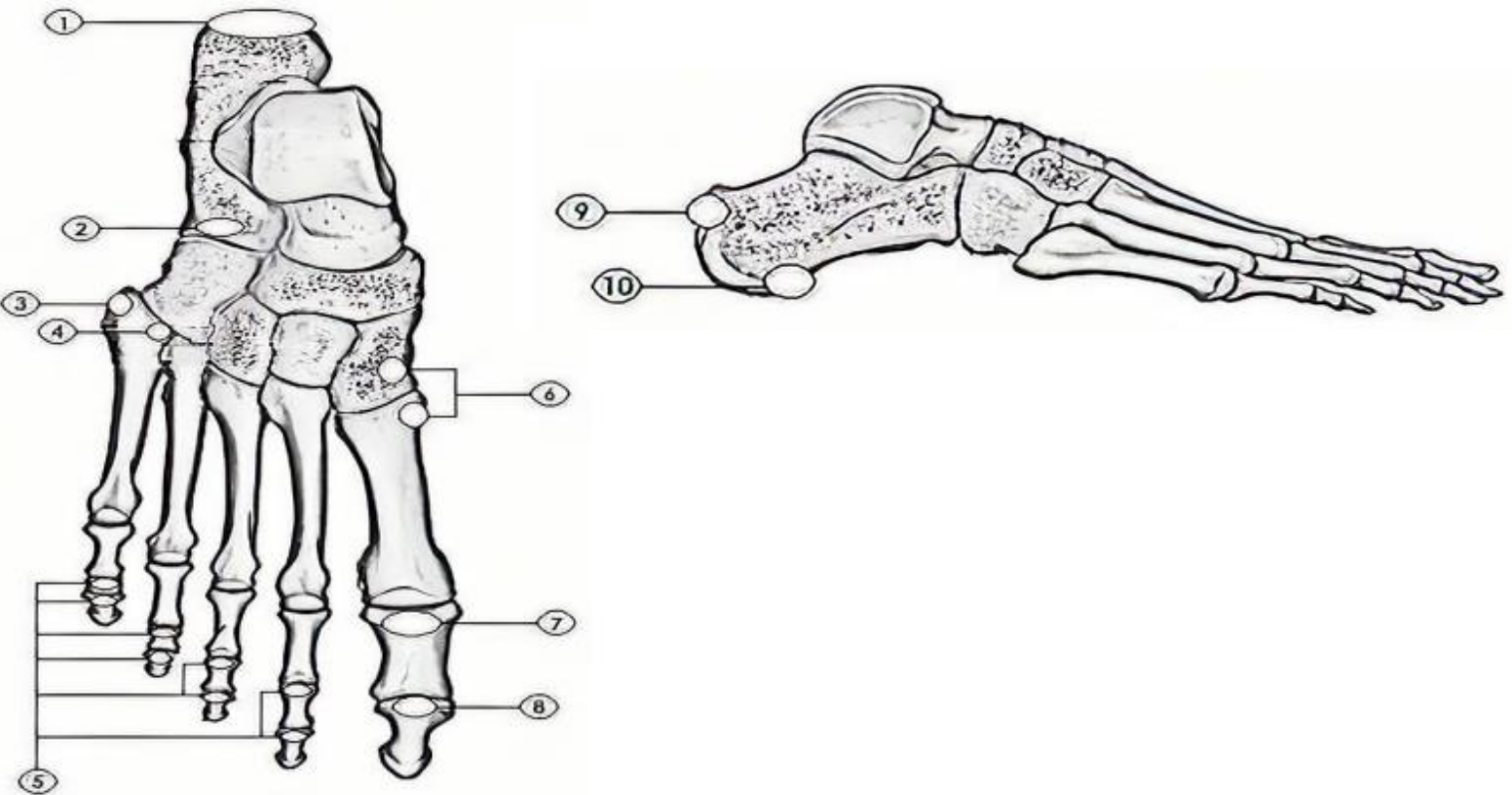
Esquema del número de articulaciones afectadas



Anexo 12.

Cuestionario sobre Tarsitis

1. ¿El paciente ha presentado alguna vez un episodio de tarsitis relacionado a Espondiloartritis?  
Si / No
2. ¿En qué fecha ocurrió el primer episodio? \_\_ / \_\_ / \_\_
3. Bilateral / Unilateral
4. ¿Hubo dolor en el pie? Si / No ¿Escala de EVA? \_\_\_\_
5. ¿Hubo aumento de volúmen? Si / No
6. ¿Tuvo limitación de la movilidad? Si / No
7. ¿Fue diagnosticada por el reumatólogo? Si / No
8. ¿Fue realizado un estudio de imagen?  
a. Ultrasonografía / Radiografía / Resonancia Magnética
9. Indique la localización de la tarsitis en las figuras



10. Fue necesario el tratamiento para tarsitis? Si / No

11. Especifique cuáles

- a. AINE sistémico: \_\_\_\_\_
- b. Corticoesteroide sistémico: \_\_\_\_\_
- c. FARME Clásico: \_\_\_\_\_
- d. Farma biológico: \_\_\_\_\_





**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



HOSPITAL  
GENERAL  
de MÉXICO

DR. EDUARDO Liceaga

Of. No. HGM-DG-255-DI-2023.  
Ciudad de México a 26 de mayo del 2023.

**DR. RUBÉN BURGOS VARGAS**  
**REUMATOLOGÍA**  
**PRESENTE**

Por medio de la presente hago de su conocimiento que el protocolo titulado: "PAPEL DE LA VÍA IGF-1 IGFR-1 EN LA PRODUCCIÓN DE IL-17 E IL-22 EN PACIENTES CONESPONDILOARTRITIS DE INICIO JUVENIL", con clave de registro **DI/23/404-A/04/10**, fue presentado al Comité de Ética en Investigación, al Comité de Investigación y al Comité de Bioseguridad, quienes dictaminaron su **A P R O B A C I Ó N**, por lo que puede iniciar su investigación.

Sin más por el momento, quedo de usted.

**Nota:** Usted registro el proyecto con el tipo de financiamiento 04 (Apoyo Federal), por lo tanto, sólo incluye la compra de reactivos o insumos y estudios de gabinete o laboratorio.

**\*\*El apoyo dependerá del presupuesto de la Dirección de Investigación, previo a su apoyo deberá acudir al área de administración para conocer el proceso.**

Atentamente  
Director de Investigación

  
**DR. EUSTACIO GALILEO ESCOBEDO GONZÁLEZ**



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA  
Comisión de Bioseguridad



DR. ROMERO LOPEZ JOSE PABLO  
PRESENTE

Por este medio informo a Usted que su proyecto:

“Papel de la vía IGF-1/ IGFR-1 en la producción de IL-17 e IL-22 en pacientes con espondiloartritis de inicio juvenil”

que será sometido a la convocatoria: Comité de Ética e Investigación del Hospital General de México.

Cumple con los requisitos establecidos por las leyes y normas en materia de Bioseguridad, razón por la cual se avala para su desarrollo.

POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU

Los Reyes Iztacala, a los 14 días del mes de marzo del 2023

Atentamente

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Federico Sandoval Olvera'.

**M.C. Federico Sandoval Olvera**  
Presidente