

Biomarcadores genéticos de los sistemas MHC/HLA-DRB1* y PTPN22 asociados a enfermedad reumática: artritis idiopática juvenil y artritis reumatoide de instalación temprana. Un enfoque analítico en un estudio piloto

Genetics Biomarkers of the MHC/HLA-DRB1* and PTPN 22 Systems Associated to Rheumatic diseases: idiopathic juvenile arthritis and rheumatoid of early installation. A descriptive approach in a pilot study

Gloria Garavito¹, Anderson Díaz¹, Clara Malagón², Antonio Iglesias³, Edgar Navarro⁴, Eduardo Egea¹

Resumen

Objetivos: Identificar biomarcadores de susceptibilidad para AIJ poliarticular y AR de instalación temprana por estudio del polimorfismo de MHC/HLA-DRB1* y PTPN22.

Materiales y métodos: Se realizó un estudio de casos y controles con una relación 1:2. Todos los sujetos de investigación y los controles provinieron de una corta anidada perteneciente a un proyecto institucional; 30 pacientes con AIJ y 30 con AR de instalación temprana. Como controles se estudiaron 60 individuos sanos. El ADN se obtuvo por salting out modificado. La tipificación de los alelos MHC/DRB1* se realizó por PCR-SSP y en el polimorfismo (C1858T) del sistema PTPN22 se utilizó PCR-RTq.

Resultados: Para AIJ Poliarticular, el alelo DRB1*0404 se asoció con susceptibilidad (OR=10.82; $p<0.05$), en el grupo con AR de instalación temprana, DRB1*0101 se mostró como marcador de susceptibilidad (OR=4.04; $p<0.05$). Se destaca que el alelo HLA-DRB1*0701 aparece como marcador protector para ambas patologías (OR=0,15; $p<0,05$). El polimorfismo del SNP (C1858T) PTPN22 no se asoció con AIJ Poliarticular. En contraste, en AR de instalación temprana, el Alelo CC se asoció con protección $p<0.05$. En el mismo grupo, CT/TT se mostró como un marcador de susceptibilidad <0.05 . El análisis de la secuencia aminoacídica 70QRRAA74 del epítipo compartido se asoció con susceptibilidad para ambas entidades ($p<0.05$) y la secuencia 70DRRGQ74 con protección en ambos grupos de pacientes ($p<0.05$).

Fecha de recepción: 10 de abril de 2013
Fecha de aceptación: 9 de junio de 2013

¹ Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular, Universidad del Norte, Barranquilla (Colombia).

² Servicio de Reumatología, Clínica del niño, IS Bogotá, D.C. (Colombia).

³ Departamento de Reumatología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C. (Colombia).

⁴ Departamento de epidemiología, Universidad del Norte, Barranquilla (Colombia).

Correspondencia: Gloria Garavito, División Ciencias de la salud, Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular, Universidad del Norte. Km 5 vía a Puerto Colombia, Barranquilla (Colombia). Teléfono: 3509486, Fax; 3598852. ggaravit@uninorte.edu.co

Conclusión: Se destaca que en la asociación con la secuencia del epítoto compartido, la ubicación del tipo de aminoácido y posición del mismo define probable asociación como marcador molecular de susceptibilidad en ambas entidades. Los polimorfismos compartidos sugieren un origen genético común para ambas entidades.

Palabras clave: Artritis idiopática juvenil poliarticular (AIJ), artritis reumatoide (AR) de instalación temprana, PTPN22, HLA-DRB1, polimorfismos, alelos, epítoto compartido (SE).

Abstract

Objectives: To identify polymorphisms of MHC/HLA-DRB1* and PTPN22 systems as a genetic biomarker of susceptibility to JIA poliarticular and early installation RA. Material and methods; This was a pilot case control study with a relation of 1:2. Patients and control individuals involved in this study were selected from a nested cohort from an institutional previous RA/JIA project. The sample was represented by thirty patients with JIA and 30 diagnosed with early installation RA. Sixty unrelated healthy individuals were involved as a control DNA Isolation was obtained by a modified salting out technique. The oligotyping of the MHC/DRB1* alleles was performed by PCR-SSP and the typing of the PTPN22 polymorphism was done by RT-PCR.

Results: The DRB1*0404 allele was associated with susceptibility to JIA (OR=10.82, P<0.05). In the early installation RA group the DRB1*0101 allele was showed as a marker of susceptibility to JIA patients (OR=4.04, P<0.05). It is noteworthy that the HLA-DRB1*0701 appears as a possible protective marker for both diseases (OR=0.15, p<0.05). The polymorphism of (C1858T)PTPN22 was not associated with poliarticular JIA. In contrast, in the early installation RA group of patients, the CC PTPN22 polymorphism was found to be as a protective marker (p<0.05). On the other hand, the amino acid sequence 70QRRAA74 of the share epitope was a marker for susceptibility to both entities (p<0.05) By contrast, the sequence 70DRRGQ74 of the same epitope was showed as a possible marker for protection on both entities (p<0.05.).

Conclusion: The model that was used for searching association between the shared epitope -region 70-74 of the DRB1* alleles and these two entities showed the importance of the location and also the type of amino acid in those positions. The polymorphisms found as molecular markers of susceptibility for both entities suggested a common origin and could suggest its probable roll as a molecular marker of susceptibility.

Keywords: juvenile idiopathic arthritis (JIA), poliarticular, early installation reumatoid arthritis, PTPN22, HLA-DRB1, polymorphisms, alleles, shared epitope(SE).

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes afectan aproximadamente entre el 5 al 10 % de la población mundial. Entre las más frecuentes se destacan artritis idiopática juvenil (AIJ) en población pediátrica y artritis reumatoide en el adulto (1). En la práctica reumatológica pediátrica, AIJ es la entidad menos estudiada inmunogenéticamente, a

diferencia de artritis reumatoide del adulto (AR). AIJ presenta variantes clínicas, lo que la hace más interesante para estudiar desde el punto de vista genético (fenotipos y endofenotipos) (2). Por definición, el inicio de esta última ocurre antes de los 16 años de edad y está clasificada en diferentes grupos clínicos bajo criterios de EULAR: AIJ oligoarticular, AIJ.

Poliarticular y AIJ sistémica (3, 4). El diagnóstico es básicamente clínico. El Colegio Americano de Reumatología estableció en 1977 criterios diagnósticos para artritis reumatoide. Esta es una enfermedad autoinmune inflamatoria y sistémica, cuya causa aún no ha sido precisada. Varios factores son importantes en su patogenia, entre ellos los genéticos, y en particular aquellos asociados con los sistema MHC y PTPN22 (5).

La patogénesis de la enfermedad puede determinarse por alteraciones a nivel del complejo trimolecular, constituido por un antígeno putativo, el receptor de linfocitos T (TcR) y el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). La carga genética se ve influenciada por la interacción de numerosos sistemas genéticos, como son los genes de los sistemas PTPN22 (C1858T) y MHC/DRB1*(6). La existencia de regiones cromosómicas asociadas a numerosas enfermedades autoinmunitarias con expresión genética similares entre ellas deja entrever la existencia de factores genéticos comunes en el desarrollo de estados de autoinmunidad. En los últimos años se han producido grandes avances en el conocimiento de estos posibles marcadores

genéticos, entre ellos el gen PTPN22, el cual es un importante regulador de la respuesta de los linfocitos. La existencia de marcadores genéticos asociadas a enfermedades autoinmunes con expresión genética similares entre ellas permite suponer la existencia de factores genéticos comunes con los mecanismos de autoinmunidad en estas entidades (6).

Varios genes han sido implicados en las enfermedades autoinmunes, resultantes de estudios en familia en los que se ha observa-

do un alto grado de segregación, mostrando patrones de expresión similares mas no idénticos para AIJ y AR (7).

Está bien establecida la asociación en diferentes grupos étnicos del polimorfismo del exón DRB1*04 con susceptibilidad en AR y AIJ. En familias se ha demostrada la segregación de los haplotipos que contienen el DR4, lo cual confiere un riesgo relativo de 4.6 para AR. En algunos grupos étnicos, como en indios, paquistaníes e israelitas, la asociación no es con el DR4, sino con el DR1, DR6 o DR10, lo mismo que en los caucásicos, africanos u orientales (8,10). Es evidente que ciertos subtipos del exón DRB1, *0401, *0404, *0405, *0408, condicionan la susceptibilidad para AR en caucásicos y que los alelos parecen conferir protección. Estos datos indican que la variación estructural en ciertos sitios de la cadena DRB1 y sus efectos en el reconocimiento de los linfocitos T están muy relacionados con la inmunopatogenia en AR. Se predice que ciertos aminoácidos ubicados en la tercera región hipervariable del primer dominio DRB1 interactúan con el péptido que se une al nicho del antígeno clase II y con el TCR (8, 12, 13).

Desde el informe de Stastny se han reportado varios alelos MHC/DRB1* asociados a esta entidad, los cuales comparten la secuencia aminoacídica 70-74 de la cadena beta en la molécula HLA-DR, tales como (⁷⁰QRRAA⁷⁴, ⁷⁰RRRAA⁷⁴, ⁷⁰QKRAA⁷⁴). Esta región se ha denominado epítipo compartido, el

cual se encuentra dentro de la fosa de anclaje al péptido, y está involucrado directamente en la presentación antigénica, lo cual sugiere un mecanismo que explicaría la susceptibilidad a la enfermedad (14).

Algunos estudios han demostrado en poblaciones del Caribe, africana, europea y anglosajona alelos que siguieren protección a la enfermedad. Estos datos también se presentan en población de China y japonesa (2, 8, 15, 17, 18).

Con relación al sistema PTPN22 se ha descrito la asociación entre el alelo C1858T PTPN22 con AR (susceptibilidad). Este alelo se comporta como un factor de riesgo en aproximadamente el 28% de los pacientes con AR. Este alelo posee una región rica en prolina (P1), la cual es importante para la interacción con proteínas cinasas CSK, enzima importante en la diferenciación y función de los linfocitos T (5, 11). La mayoría de estos estudios han sido llevados a cabo con pacientes caucásicos y anglosajones. Muy pocos son los

trabajos realizados en grupos multiétnicos y ninguno en la población del Caribe colombiano (7, 12, 18, 19).

Estudios de secuenciación de estos alelos, en las muestras de pacientes caucasoides que sufren de AR y AIJ poliarticular, han revelado un incremento en la expresión de las frecuencias de los alelos DR β 1*0401 y *0404 para ambas entidades. Igual hallazgo se encontró para el alelo DR β 1* 0405 en pacientes japoneses. Lo anterior permite soportar el concepto de que AIJ poliarticular está estrechamente asociado, desde el punto de vista genético, con AR en el adulto. De otra parte, desde el punto de vista clínico, el cuadro sindromático y varios marcadores serológicos de autoinmunidad son muy similares. Es importante resaltar que en la literatura se han informado, tanto por nosotros como por otros grupos, secuencias del epítoto compartido similares entre ambas enfermedades (8, 12, 19-22).

En los últimos años se han descrito asociaciones de genes comunes como el SNP Funcional PTPN22 (C1858T), el MHC/HLA DRB1* y de DQB1* con AR y AIJ, además de otros genes, tales como PDCD1, FCRL3, SUMO4, CD25, PADI4 y SLC22A4 (5, 18, 23-26).

En lo que respecta al sistema PTPN22, la literatura muestra varios informes que asocian polimorfismos de este sistema como factor de riesgo para el desarrollo de múltiples enfermedades autoinmunes (27). Este gen ha sido señalado como un factor de riesgo implicado en la producción de autoanticuerpos, ya que las enfermedades autoinmunes con las que muestra asociación son aquellas en las que los anticuerpos son sumamente importantes en su fisiopatología.

Algunos estudios mencionan una posible interacción del gen PTPN22 (C1858T) con el MHC/HLA-DRB1* y de estos con el medio ambiente como características dominantes comunes en el desarrollo de la artritis reumatoide y artritis idiopática juvenil poliarticular (30, 31). Aproximadamente un 42 % de la susceptibilidad para la presencia de AR corresponde a un componente genético con un mayor porcentaje del Sistema MHC/HLA-DRB1, el gen donde el PTPN22 se ha encontrado mayormente asociado con susceptibilidad en poblaciones ancestrales del norte de Europa, con un riesgo atribuible de aproximadamente del 8 % (29-33). El gen PTPN22 codifica la fosfatasa linfoide de la tirosina, la cual es una proteína con una función potencial en regulación de umbrales para activación de los linfocitos B y T, de ahí la hipótesis de una posible interacción entre ellas (32-36).

Se ha propuesto que el polimorfismo PTPN22 (C1858T) está asociado con suscep-

tibilidad por una falta de supresión para las células de T autorreactivas, lo cual predispone a autoinmunidad. La variación en el gen podría, por lo tanto, predisponer a AR, creando un ambiente permisivo para una alteración de la inmunomodulación y una respuesta hacia las propias proteínas (37).

El objetivo de este estudio fue identificar polimorfismos de los sistemas genéticos MHC/HLA-DRB1* y PTPN22 (SNP's C1858T) en una muestra que incluyó dos grupos de pacientes colombianos que sufren de AIJ poliarticular y AR de instalación temprana con el propósito de asociarlos como marcadores de susceptibilidad para desarrollar artritis idiopática juvenil poliarticular y artritis reumatoide de instalación temprana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este fue un estudio analítico de corte transversal de casos y controles con una relación 1:2. Cada uno de los sujetos en el estudio firmó el consentimiento informado, previamente aprobado por el Comité de Bioética de la Fundación Universitaria del Norte.

Pacientes

Se involucraron dos grupos de estudio: 30 muestras de pacientes con artritis idiopática juvenil (AIJ) poliarticular y 30 de pacientes con artritis reumatoide de instalación temprana. Las muestras se tomaron al azar usando un número impar y provinieron de una cohorte anidada previamente constituida en la ciudad de Barranquilla, del proyecto de Colciencias referenciado: 1215-343-19299. El principal criterio de inclusión fue cumplir con los criterios diagnósticos para AIJ poliarticular y AR de instalación definidos por la ACR y ILAR (38-40).

Controles

El grupo control estuvo representado por 60 sujetos, clínicamente normales, no relacionados familiarmente con los pacientes con (AIJ) poliarticular o AR de

instalación temprana, provenientes de la misma corte, que no tenían antecedentes de enfermedad autoinmunes personales o familiares de alérgicas. Además se tuvo en cuenta la edad, el género y condiciones sociodemográficas cotejadas con los pacientes.

Identificación de los alelos MHC/ DRB1*

El ADN de los pacientes y los controles se aisló a partir de linfomononucleares de sangre periférica por el método de Salting Out modificado (38). La *Tipificación Molecular de los alelos MHC/HLA Clase-II: (DRB1*)* se realizó por la técnica de PCR-SSP con sondas de secuencia específica (BIOTEST). Se tipificó el exón 2 de la cadena $\beta 1$ del alelo HLA-DRB1(39).

Identificación de los alelos del (C1858T) PTPN22

El polimorfismo del alelo C1858T- PTPN22 (Roche) se estudió por Rtq-PCR (120). La genotipificación molecular del alelo PTPN22 polimorfismo (C1858T), homocigoto silvestre (C/C), heterocigoto mutado (C/T) y homocigoto mutado (T/T) se realizó con sondas de hibridación-PCR en Tiempo Real en el equipo LightCycler® 2.0 Carousel-Based System (Laboratorio Roche, división Roche Molecular Biochemicals).

Análisis de las secuencias del epítipo compartido en AIJ poliarticular y AR de instalación temprana

A partir de las secuencias aminoacídicas de la región 70-74 de los diferentes alelos que portan el epítipo compartido se llevó a cabo un análisis *in silico*. Para ello se escogieron solo aquellas secuencias aminoacídicas con significancia estadística, que se mostraron asociadas a susceptibilidad o protección en AIJ poliarticular y AR de instalación temprana. El análisis permitió una clasificación arbitraria apoyada en el papel que los aminoácidos

pueden cumplir en el reconocimiento antigénico. Se implementó la siguiente clasificación:

1. Secuencias: de alelos HLA-DRB1* con (SE) de protección para ambas patologías: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana.
2. Secuencias de alelos: HLA-DRB1* con (SE) de susceptibilidad para ambas patologías: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana.
3. Secuencias de alelos HLA-DRB1* con (SE) que muestran aminoácidos neutros para ambas patologías (AIJ) poliarticular y AR de instalación temprana.
4. Otras secuencias de alelos HLA-DRB1* con (SE) presentes en los alelos encontrados en ambas entidades.

Análisis de las Secuencias de alelos HLA-DRB1* con (SE) de protección para ambas patologías: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana

Las secuencias (SE) de alelos HLA-DRB1* asociados a protección se clasificaron con la convención **(F)**. Estas mostraron en la posición 70 el aminoácido D del bolsillo 4 en la molécula MHC-DRB1* y en cualquier posición de forma individual o repetida entre las posiciones 71 a 74 del (SE) el aminoácido (R) con un posible papel en el cambio de conformación espacial de la molécula al momento de acoplar el antígeno. Se sistematizó la siguiente agrupación:

F: epítopes compartidos con el aminoácido **(D)**.

F₁: para las secuencias **(D/RR/)**.

F₂: para las secuencias **(D/R//)**.

F₃: para las secuencias **(DRR//)**.

/: Cualquier otro aminoácido diferente a **(D)** o **(R)** dentro del (SE).

Secuencias de alelos HLA-DRB1* con (SE) de susceptibilidad para ambas patologías: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana

Las secuencias (SE) de alelos MHC/HLA: DRB1* asociados a susceptibilidad se clasificaron con la convención de la letra **(S)**; ellas poseen en la posición 70 el aminoácido **(Q)** y en cualquier posición el aminoácido **(R)** entre las posiciones 71 a 74 del (SE). Se sistematizó la agrupación de la siguiente forma:

S: epítipo compartido con el aminoácido **(Q)** en la posición 70 del bolsillo 4 de la molécula MHC/HLA-DRB1*.

S₁: para las secuencias (Q/R//).

S₂: para las secuencias (Q/R/R).

S₃: para las secuencias (QRR//).

/: Cualquier otro aminoácido diferente a (Q) o (R) dentro del (SE).

Secuencias de alelos HLA-DRB1* con (SE) y demás aminoácidos neutros para ambas patologías: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana

Secuencias de aminoácidos con un papel neutro que no se pudieron asociar con protección o susceptibilidad para las patologías (AIJ) poliarticular y AR de instalación temprana. Se sistematizó la siguiente agrupación:

X₁: Secuencias (neutras).

Una vez identificadas y determinadas las secuencias de protección o susceptibilidad según la clasificación arriba descrita, se decidió realizar la sumatoria (Σ) de las secuencias proponiendo la siguiente convención:

Para las secuencias con el aminoácido (D) en la posición 70 seguido del aminoácido (R) en cualquier posición del (SE) asociadas a protección, con la convención de (-) en ambas patologías: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana, entonces la sumatoria de (SE) de posible protección con la convención de (F) fue representada como: $\Sigma F^{(-)}$.

Para las secuencias con el aminoácido (Q) en la posición 70 seguido del aminoácido (R) en cualquier posición del (SE) asociadas a susceptibilidad, con la convención (+) en ambas patologías: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana, se hizo la sumatoria

de (SE) de posible susceptibilidad con la convención de (S), quedando representado como: $\Sigma S^{(+)}$.

Esta clasificación ayudó a calcular y proponer de manera global el papel del (SE) en las dos patologías, considerándolo como un *posible sistema común para ambas patologías*.

Lo anterior, dentro del modelo que se usó, permitió agrupar las secuencias a la siguiente convención:

1. Epítopes compartidos asociado a protección con el signo (-), lo cual quedó con la convención $\Sigma SE^{(-)}$.

2. Epítopes compartidos asociado a susceptibilidad con el signo (+), que quedó con la convención $\Sigma SE^{(+)}$.

3. Epítopes compartidos de secuencias neutras sin un papel aparente: X₁.

El modelo anterior permitió finalmente el análisis de la secuencia aminoacídica (70-74) del epítope compartido del bolsillo 4 de MHC/DRB1*:

$\Sigma SE^{(-)}$: F1+F2+F3

$\Sigma SE^{(+)}$: S1+S2+S3

X₁

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó usando los programas estadísticos SPSS 11.5 y EpiInfo versión 6.0 para el análisis de asociación en cuanto a OR, intervalo de confianza y valor de p (X², corrección de Yates y Fisher).

Para la asociación de los polimorfismos en AR de instalación temprana y AIJ poliarticular se construyeron tablas de contingencia (2x2). Se calculó el OR y se consideró significativo aquel con un IC del 95% y un valor de $p < 0.05$. Se contrastó la hipótesis de asociación mediante un test de χ^2 , con su respectivo valor de $p < 0,05$, con un IC del 95%. Se tuvo en cuenta el test exacto de Fisher y se calculó el valor de p corregido de Yates en aquellos casos en los que la frecuencia esperada fue menor de 5 (Test de Yates) y menor de 3 (Test Exacto de Fisher). Se utilizó corrección de Bonferroni como un método usado para contrarrestar el problema de las comparaciones múltiples. Para determinar el equilibrio de Hardy Weinberg se utilizó la calculadora virtual para pruebas de comprobación biológica de estudios de aleatorización mendeliana de la [American Journal of Epidemiology](#) ([Hardy-Weinberg calculadora incluyendo el análisis de sesgo de evaluación](#)).

<http://translate.google.com.co/translate?hl=es&langpair=en%7Ces&u=http://www.oege.org/software/hwe-mr-calc.shtml>).

RESULTADOS

Frecuencias alélicas del exón HLA-DRB1* más frecuentemente expresadas en pacientes con AIJ poliarticular y AR de instalación temprana y sujetos controles

En la tabla 1 se observa que los pacientes que sufren de AIJ poliarticular expresaron más frecuentemente el alelo MHC/HLA-DRB1* 0301, seguido de los alelos DRB1*0404 y DRB1*0405 (8 %). Para los pacientes con AR de instalación temprana, el alelo DRB1*0101 se mostró como el más frecuente (20 %), seguido del DRB1*1501, con un 12 %. Otros alelos expresados en este grupo de pacientes fueron DRB1*0301 (10 %) y DRB1*0901, con un 8 %.

El alelo HLA-DRB1*0404 se comportó como un posible marcador de susceptibilidad para AIJ poliarticular (OR=10.82; IC: 1.18-250.67; $p=0,016$.) Se destaca que DRB1*0701 se mostró como un marcador de protección tanto para AIJ poliarticular (OR= 0.15; IC: 0.02-0.71); $p=0.011$) como para AR de instalación temprana (OR= 0.15; IC: 0.02-0.71 $p=0.011$) y el alelo HLA-DRB1*0101 como un posible marcador de susceptibilidad para AR de instalación temprana (OR= 4.04; IC: 1.37-12.19) $p=0,007$.

Secuencia aminoacídica del epítipo compartido (posición 70-74) del exón DRB1* y su asociación con artritis reumatoide de instalación temprana

Tabla 1. Alelos MHC/DRB1* más frecuentemente expresados en pacientes con AIJ poliarticular y AR de instalación temprana

HLA-DRB1*	(AIJ) POLIARTICULAR	CONTROLES	OR	Valor de p	AR DE INSTALACION TEMPRANA N=30 (%)	CONTROLES	OR	Valor de p
	N=30 (%)	N=60 (%)				N=60 (%)		
DRB1*0101	3 (5)	7 (6)	0.85	0.559*	12 (20)	7 (6)	4.04	0.007** ^B
DRB1*0103	0 (0)	4 (3)	0.00	0.194*	1 (2)	4 (3)	0.49	0.459*
DRB1*0301	6 (10)	8 (7)	1.56	0.304*	6 (10)	8 (7)	1.56	0.304*
DRB1*0401	1 (2)	1 (1)	2.02	0.556*	3 (5)	1 (1)	6.26	0.108*
DRB1*0402	3 (5)	0 (0)	Ind	0.035*	2 (3)	0 (0)	Ind	0.109
DRB1*0404	5 (8)	1 (1)	10.82	0.016* ^B	2 (3)	1 (1)	4.10	0.258*
DRB1*0405	5 (8)	1 (1)	10.82	0.016*	0 (0)	1 (1)	0.00	0.666*
DRB1*0407	2 (3)	3 (3)	1.34	0.540*	2 (3)	3 (3)	1.34	0.540*
DRB1*0408	1 (2)	0 (0)	Ind	0.333	2 (3)	0 (0)	Ind	0.109*
DRB1*0411	2 (3)	3 (3)	1.34	0.540*	0 (0)	3 (3)	0.00	0.293*
DRB1*0701	2 (3)	22 (18)	0.15	0.011** ^B	2 (3)	22 (18)	0.15	0.011** ^B
DRB1*0801	0 (0)	6 (5)	0.00	0.084*	0 (0)	6 (5)	0.00	0.089*
DRB1*0802	2 (3)	1 (1)	4.10	0.258*	1 (2)	1 (1)	2.02	0.556*
DRB1*1101	4 (7)	6 (5)	1.36	0.440*	2 (3)	6 (5)	0.66	0.465*
DRB1*1102	0 (0)	7 (6)	0.00	0.055*	0 (0)	7 (6)	0.00	0.055*
DRB1*1104	1 (2)	2 (2)	1.00	0.706*	0 (0)	2 (2)	0.00	0.528*
DRB1*1303	3 (5)	2 (2)	3.11	0.207*	2 (3)	2 (2)	2.03	0.407*
DRB1*1304	0 (0)	1 (1)	0.00	0.666*	0 (0)	1 (1)	0.00	0.666*
DRB1*1305	1 (2)	1 (1)	2.02	0.556*	0 (0)	1 (1)	0.00	0.666*
DRB1*1402	2 (3)	1 (1)	4.10	0.258*	0 (0)	1 (1)	0.00	0.666*
DRB1*1501	3 (5)	8 (7)	0.74	0.496*	7 (12)	8 (7)	1.85	0.391**
DRB1*1502	2 (3)	1 (1)	4.10	0.258*	0 (0)	1 (1)	0.00	0.666*
DRB1*1503	2 (3)	0 (0)	Ind	0.109	3 (5)	0 (0)	Ind	0.035*
DRB1*1602	1 (2)	0 (0)	Ind	0.333	0 (0)	0 (0)	Ind	Ind

Fuente: datos tabulados por los autores.

**Test de Yates; *Test Exacto de Fisher. B: Corrección de Bonferroni Ajustado<0,025 con un (1) grado de libertad y correlación de 1.

La tabla 2 describe los diferentes alelos del Exon DRB1 que comparten la secuencia 70-74 del bolsillo 4 de la tercera región hipervariable de la cadena HLA-DRB1. Se encontró al alelo DRB1*0701(DRRGQ) asociado a protección (OR=0,15; IC: 0,02-0,71, p=0,01). Los alelos DRB1*0101, 0404, 0405 y 0408, que expresan una secuencia 70-74 QRRAA, se asociaron a susceptibilidad (OR= 4,48; IC: 1,56-10,37 p=0,001).

Para AIJ poliarticular, el alelo HLA-DRB1*0701, cuya secuencia en la posición (70-74) del bolsillo 4 de la tercera región hipervariable de la cadena HLA-DRB1* es ⁷⁰ DRRGQ⁷⁴, y se expresó como un posible marcador de protección (OR= 0,15; IC: 0,02-0,71 p=0,01). Los alelos HLA-DRB1*0101, *0404, *0405, *0408 y *1402, que comparten una secuencia ⁷⁰QRRAA⁷⁴, se asociaron a susceptibilidad (OR=3,75; IC (1,58-8,13 p=0,005).

Tabla 2. Epítotope compartido del bolsillo 4 del exón 3 (70-74) del alelo MHC/HLA-DRB1* y su asociación con artritis reumatoide de instalación temprana y artritis idiopática juvenil poliarticular

ALELOS MHC/HLA-CLASE II: DRB1*	EPÍTOPE COMPARTIDO Pocket 4 (70-74)	AR INSTALACION TEMPRANA n= 60 (%)	CONTROLES n=120 (%)	OR	Valor-p	AIJ POLI ARTICULAR n= 60 (%)	CONTROLES n=120 (%)	OR	Valor-p
, *1304 *0103, *0402, *1302, *1102	DERRA	5 (5)	12 (10)	0,47	0,39**	5 (8.3)	12 (10)	0,82	0,92**
1303	DKRAA	2 (3)	2 (3)	2,03	0,60	3 (5)	2 (3)	3,11	0,34*
*1101, *1104, *1305, 1602	DRRAA	2 (3)	10 (17)	0,38	0,34*	7 (12)	10 (17)	1,45	0,65**
*0801, *0802, *0803	DRRAL	1 (2)	7 (6)	0,27	0,27*	2 (3)	7 (6)	0,56	0,37*
*0701	DRRGQ	2 (3)	22 (37)	0,15	0,01**	2 (3)	22 (37)	0,15	0,01** ^B
*1501, *1502, *1503	QARAA	10 (17)	9 (15)	2,47	0,10**	7 (12)	9 (15)	1,63	0,52**
0401	QKRAA	3 (5)	1 (0.8)	6,26	0,21	1 (2)	1 (0.8)	2,02	1,0*
*0301	QKRGR	6 (10)	8 (6.6)	1,56	0,5**	6 (10)	8 (6.6)	1,56	0,55**
*0101, *0404, *0405, *0408	QRRAA	16 (27)	9 (7.5)	4,48	0,001** _B	14 (23.3)	9 (7.5)	3,75	0,005** _B
*0407, *0411	QRRAE	2 (3.3)	6 (5)	0,66	0,72*	4 (6.6)	6 (5)	1,36	0,75*

Fuente: datos tabulados por los autores.

**Corrección De Yates; *Test Exacto De Fisher; B: Corrección de Bonferroni Ajustado<0,025 con un (1) grado de libertad y una correlación de 1.

Análisis de asociación de las frecuencias alélicas del polimorfismo C1858T de PTPN22 con AIJ poliarticular y AR de instalación temprana

La tabla 3 muestra las frecuencias alélicas más frecuentemente expresadas de estos polimorfismos. En los pacientes con artritis idiopática juvenil poliarticular, los alelos más frecuentemente expresados fueron C/C (90 %), seguido de C/T, con un 6,7 %, y T/T, con un 3,3 %. El polimorfismo C/C (C1858T) se expresó como un alelo de protección (OR=0,23; p=0,070543).

Para los pacientes que sufren de AR de instalación temprana, el alelo C/C fue el de mayor frecuencia alélica (73,3 %), seguido de C/T con un 20 %.

Este grupo de pacientes se encuentra en equilibrio de HW, ya que estuvo por debajo de 3,84, con un valor de $p > 0.05$; los pacientes con el alelo silvestre (C/C) se expresó con un OR=0,06; $p = 0,0005^*$, y se lo sugiere como un alelo de protección para AR. El alelo mutado (C/T) mostró un OR=16,09; $p = 0,0037^*$, lo cual indica que es un alelo asociado con susceptibilidad en esta entidad. El cálculo de Bonferroni demuestra que la posición de los alelos del PTPN22, específicamente el alelo mutante (CT), es un marcador de susceptibilidad para (AR) de instalación temprana, con un valor de $p < 0,025$.

Tabla 3. Asociación del polimorfismo (C1858T) de PTPN22 con AIJ poliarticular y AR reumatoide de instalación temprana

PTPN22 (C1858T)	(AIJ) POLIARTICULAR N=30 (%)	CONTROLES N=60 (%)	OR	Valor-p	AR DE INSTALACION TEMPRANA N=30 (%)	CONTROLES N=60 (%)	OR	Valor-p
CC	27 (90)	59 (98,3)	0,23	0,070543**	22 (73,3)	59 (98,3)	0,05	0.0005* ^B
CT	2 (6,7)	1 (1,7)	3,1	0,212881*	6 (20,0)	1 (1,7)	16,09	0,0037* ^B
TT	1 (3,3)	0 (0,0)	0,1	0,154987*	2 (no determinado)	0 (0,0)	6,31	0,043114
Total	30	60			30	60		

Fuente: datos tabulados por los autores.

**Test Yates, Ind: Indeterminado, *Test Exacto de Fisher, B: Corrección de Bonferroni Ajustado $< 0,025$ con un (1) grado de libertad y una correlación d 1.

Análisis de asociación entre los aminoácidos que hacen parte del bolsillo 4 en la posición 70-74 del epítipo compartido MHC/HLA- DRB1* implicados en la susceptibilidad o protección para las dos entidades: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana

La tabla 4 describe cómo el aminoácido de la posición (70) del bolsillo 4 de la región hipervariable de la cadena DRB1, el cual corresponde al aminoácido ácido aspártico (D), contribuye, en ambas patologías, como un aminoácido de posible protección. Para AIJ poliarticular, el aminoácido ácido aspártico (D) un OR=0,49; IC (0,25-0,97) y un valor de p=0,0397* y se sugiere como posible

protector, y para artritis reumatoide de instalación temprana, el aminoácido (D) un OR=0,22; IC (0,10-0,48) y un valor de

p=0,0000*, sugiriéndolo como posible protector para no presentar la enfermedad. Con relación al aminoácido Glutamina (Q), en la posición (70) del bolsillo 4 de la región hipervariable de la cadena DRB1 se encontró asociado como un aminoácido de posible susceptibilidad en las dos entidades clínicas: AIJ poliarticular y AR de instalación temprana.

Para AIJ poliarticular, un OR= 2,0; IC (1,01-3,96), con un valor de p=0,045*, y para artritis de instalación temprana un OR=3,71; IC (1,84-7,53), con un valor de p=0,0001*, con un posible papel en la susceptibilidad de presentar la enfermedad. En pacientes con artritis reumatoide de instalación temprana se encontró asociado de posible susceptibilidad a la enfermedad, con un OR=3,35; IC: (1,02-11,30) y un valor de p=0,045** para este grupo de pacientes colombianos.

Tabla 4. Análisis de los aminoácidos que hacen parte del bolsillo 4 en la posición (70) del epítipo compartido del MHC/HLA- DRB1* asociados con (AIJ) poliarticular y AR de instalación temprana

AMINOACIDO EN LA POSICION (70) DEL EPIPOE COMPARTIDO DEL MHC/HLA-CLASE II: DRB1*	AIJ POLIARTICULAR n=60 (%)	CONTROLES n=120 (%)	OR	IC:95%	Valor-p	AR REUMATOIDE DE INSTALACION TEMPRANA n=60 (%)	CONTROLES n=120 (%)	OR	IC:95%	Valor-p
D	22 (36,7)	65 (54,2)	0,49	0,25-0,97	0,0397*	12 (20)	65 (54,4)	0,22	0,10-0,48	0,0000* ^B
Q	30 (50)	40 (33,3)	2,00	1,01-3,96	0,045*	39 (65)	40 (33,3)	3,71	1,84-7,53	0,0001* ^B
R	8 (13,3)	6 (5)	2,92	0,86-10,10	0,0735**	9 (15)	6 (4,8)	3,35	1,02-11,30	0,045**
X ¹	0 (0)	9 (7,5)	0,00	0,00-1,14	0,0234**	0 (0)	9 (7,5)	0,00	0,00-1,14	0,023**
Total	60 (100)	120 (100)				60 (100)	120 (100)			

Fuente: datos tabulados por los autores.

*Test de Yates; **Test Exacto de Fisher; B: Corrección de Bonferroni Ajustado <0,025 con un (1) grado de libertad y una correlación de 1. Aminoácidos que conforman el cuarto bolsillo de unión (Pocket 4): D: Acido Aspártico; Q: Glutamina; R: Arginina; X¹: Demás Aminoácidos.

Análisis de las secuencias del epítipo compartido ubicadas en la posición (70-74) del bolsillo 4 de los alelos MHC/HLA- DRB1* implicados en la susceptibilidad o protección en las dos entidades en un grupo de pacientes con AIJ y AR de instalación temprana

Nótese en la tabla 5 cómo la secuencia [F₃] se sugiere como posiblemente asociada a protección en pacientes con AR de instalación temprana, con un OR=0,18; IC (0,06-0,52) y un valor de p<0,05. La secuencia (S₁) se encontró posiblemente asociada a susceptibilidad, con un OR=2,74; IC (1,06-7,15) y un valor de p<0,05. La secuencia (S₃) se encontró como un epítipo de posible susceptibilidad, con un OR=4,00; IC (1,56-10,37) y un valor de p<0,05.

Sumatoria de las frecuencias de epítopos compartidos del bolsillo (4) posición (70-74) del exón 4 de los alelos MHC: HLA-DRB1* implicados en la susceptibilidad

o protección en las dos entidades en AIJ y AR

Cuando se realizó la sumatoria de las secuencias del epítipo compartido (tabla 6), aquellas asociadas a protección ($\sum SE^{(-)}: F_1+F_2+F_3$), tanto en AIJ poliarticular como en AR de instalación temprana, se encontró que esta es significativa, y se sugiere como marcador protector en los pacientes con AIJ poliarticular cuando el aminoácido presente en la posición (70) correspondía a un ácido aspártico (D); OR=0,49; IC (0,25-0,97) p<0,05, y para los pacientes con AR de instalación temprana igual con un OR=0,22; IC (0,10-0,48) p<0,05. Al asociar el aminoácido (R) precedido por (Q) en la posición (70) con las siguientes secuencias ($\sum SE^{(+)}: S_1+S_2+S_3$) se encontró que este se asoció como marcador de susceptibilidad para AIJ poliarticular: OR=2,00; IC (1,01-3,96) p<0,05. Igual significancia para AR de instalación temprana: OR=4,31; IC (2,12-8,80) p<0,05.

Tabla 5. Secuencias del epítipo compartido en la posición (70-74) del bolsillo 4 del MHC/HLA-DRB1* asociados con (AIJ) poliarticular y AR de instalación temprana

SECUENCIAS DEL EPÍTOPE COMPARTIDO (POCKET 4) POSICIÓN (70-74) EN LOS DOS GRUPOS DE PACIENTES Y CONTROLES DEL ALELO HLA-DRB1*	(AIJ) POLIARTICULAR n=60 (%)	CONTROLES n=120 (%)	OR	IC	Valor-p	AR DE INSTALACIÓN TEMPRANA n=60 (%)	CONTROLES n=120 (%)	OR	IC	Valor-p
F ₁	9 (15)	23 (19,2)	0,74	0,29-1,85	0,629*	5 (8,3)	22 (18,3)	0,40	0,13-1,21	0,121*
F ₂	0 (0)	2 (1,7)	0,00	0,00-8,24	0,553**	2 (3,3)	2 (1,7)	2,03	0,20-20,84	0,602**
F ₃	13 (21,7)	40 (33,3)	0,55	0,25-1,20	0,148*	5 (8,3)	40 (33,3)	0,18	0,06-0,52	0,0005* ^B
S ₁	8 (13,6)	11 (9,2)	1,52	0,52-4,40	0,548*	13 (21,7)	11 (9,2)	2,74	1,06-7,15	0,0363*
S ₂	6 (10)	10 (8,3)	1,22	0,37-3,91	0,926*	7 (11,7)	10 (8,3)	1,45	0,47-4,44	0,652*
S ₃	16 (26,7)	19 (15,8)	1,93	0,85-4,38	0,1256*	16 (26,7)	10 (8,3)	4,00	1,56-10,37	0,0021* ^B
X ¹	8 (13,3)	15 (12,5)	0,37	0,15-0,92	0,031*	12 (20)	25 (20,9)	0,95	0,41-2,18	0,948*
Total	60 (100)	120 (100)				60 (100)	120 (100)			

Fuente: datos tabulados por los autores.

*Test de Yates; **Test Exacto de Fisher. B: Corrección de Bonferroni Ajustado <0,025 con un (1) grado de libertad y una correlación de 1. Aminoácidos que conforman el cuarto bolsillo de unión (Pocket 4): D: Acido Aspártico; Q: Glutamina; R: Arginina. Clasificación De Secuencias: F₁: (D/RR/); F₂ (D/R//); F₃ (DRR//); S₁: (Q/R//); S₂ (Q/R/R); S₃ (QRR//); X¹: Demás Secuencias (Neutras).

Tabla 6. Sumatoria de las frecuencias de epítopes compartidos del bolsillo (4) posición (70-74) del exón 4 del alelo *MHC: HLA-DRB1** en los dos grupos de pacientes y controles implicados en la susceptibilidad o protección en las dos entidades en una población Colombiana

SECUENCIAS DEL EPÍTOPE COMPARTIDOS DEL BOLSILLO (4) EN LA POSICION (70-74) EN LOS DOS GRUPOS DE PACIENTES Y CONTROLES DEL ALELO MHC/HLA-CLASE II: DRB1*	AIJ POLIARTICULAR n=60 (%)	CONTROLES n=120 (%)	OR	IC:95%	Valor - p	AR DE INSTALACIÓN TEMPRANA n=60 (%)	CONTROLES n=120 (%)	OR	IC:95%	Valor - p
$\Sigma SE^{(+)}$: F ₁ +F ₂ +F ₃	22 (31,4)	65 (54,2)	0,49	0,25-0,97	0,0397*	12	64	0,22	0,10-0,48	0,0000 * ^B
$\Sigma SE^{(-)}$: S ₁ +S ₂ +S ₃	30 (50)	40 (33,3)	2	1,01-3,96	0,0454*	36	31	4,31	2,12-8,80	0,0000 * ^B
X ₁	8 (13,3)	15 (12,5)	0,37	0,15-0,92	0,031*	12 (20)	25 (20,9)	0,95	0,41-2,18	0,948 *
Total	60 (100)	120 (100)				60 (100)	120 (100)			

Fuente: datos tabulados por los autores.

Test de Yates*; *Test Exacto de Fisher*. B: Corrección de Bonferroni Ajustado <0,025 con un (1) grado de libertad y una correlación de 1. Aminoácidos que conforman el cuarto bolsillo de unión (Pocket 4): D: Acido Aspártico; Q: Glutamina; R: Arginina. Convención De Secuencias: F₁: (D/RR//); F₂ (D/R//); F₃ (DRR//); S₁: (Q/R//); S₂ (Q/R/R); S₃ (QRR//); X₁: Demás Secuencias.; Σ : Sumatoria de secuencias; SE⁽⁺⁾: Epítope Compartido de Protección; SE⁽⁻⁾: Epítope Compartido de Susceptibilidad.

DISCUSIÓN

Son muchos los sistemas genéticos implicados en la susceptibilidad o protección en AR de instalación temprana y e AIJ poliarticular. Los resultados de este estudio sugieren el papel de los polimorfismos de dos sistemas genéticos: PTPN22 (C1858T) y HLA-DRB1*, como marcadores de susceptibilidad o protección en estas enfermedades autoinmunes, lo cual se considera como un hallazgo que permite suponer una posible base genética común en ellas.

La tipificación de los alelos MHC/DRB1* en el grupo de pacientes con AIJ poliarticular mostró al alelo DRB1*0404 como un probable marcador de susceptibilidad para esta entidad (OR=10.82; p<0.05). En las muestras del grupo de pacientes con AR de instalación temprana, el alelo HLA-DRB1*0101 se asoció como un marcador de susceptibilidad (OR=4.04; p<0.05,). Se resalta que el

alelo HLA-DRB1*0701 se identifica como un marcador de protección en ambas entidades (OR=0,15; p<0,05). De otra parte, en el sistema PTPN22, el polimorfismo (C1858T) no se asoció con AIJ poliarticular. En las tipificaciones

de las muestras de pacientes con AR de instalación temprana, el polimorfismo CC se sugiere como marcador protector (p<0.05) y el polimorfismo CT/TT como marcador de susceptibilidad (p<0.05).

En el análisis de la secuencia aminoacídica ⁷⁰QRRAA⁷⁴ se encontró que esta se asoció como un marcador de susceptibilidad para ambas entidades (p<0.05). En el mismo sentido, la secuencia ⁷⁰DRRGQ⁷⁴ estuvo asociada a protección en ambas entidades (p<0.05). En la clasificación del epítope compartido que se usó se muestra que el aminoácido (Q) en la posición 70 tiene un posible papel para la susceptibilidad en am-

bas entidades ($p < 0.05$). En esta misma posición, el aminoácido (D) sugiere protección en ambas patologías ($p < 0.05$). El análisis del aminoácido (R) encuentra que, independientemente de su posición dentro del (SE), este estaría asociado a susceptibilidad.

Los resultados de las asociaciones en los dos sistemas genéticos: PTPN22 (C1858T) y MHC/DRB1*, con AR de instalación temprana y con AIJ poliarticular se comportan con un patrón similar al informado en la literatura. Se destaca que a pesar del número de pacientes estudiados se encontró una significancia estadística en las asociaciones con los biomarcadores genéticos.

Se desea resaltar que el modelo utilizado para estudiar el epítipo compartido mostró en ambas entidades a los aminoácidos guanina, arginina y aspártico como importantes marcadores de asociación con la susceptibilidad o protección. Dichos aminoácidos en la molécula MHC/HLA-DRB1*, en razón a su carga eléctrica, podrían tener un papel importante a través de las fuerzas intermoleculares que interactúan, produciendo cambios en el espacio o conformación molecular del (SE), contribuyendo a la presentación antigénica de péptidos artritogénicos. Estos resultados permiten suponer que los aminoácidos de la posición (70) del bolsillo 4 en el exón MHC/DRB1*, en ambas entidades, conferirían a través de su potencial electrostático un acople con el

péptido artritogénico, debido al cambio conformacional. Estos polimorfismos, posiblemente comunes en artritis reumatoide de instalación temprana y artritis idiopática juvenil poliarticular, son moléculas que participan en mecanismos cruciales de la cascada inflamatoria en la fisiopatología de la enfer-

medad autoinmune, y a la vez están implicados en la activación de linfocitos T CD4. Los resultados obtenidos por nosotros en este estudio muestran que los epítipes compartidos (SE+) de los alelos (MHC/HLA-Clase II: DRB1*) y el polimorfismo del (C1858T) PTPN22 podrían considerarse como posibles marcadores moleculares comunes.

En la literatura hay una escasa información sobre la correlación existente entre estos dos sistemas genéticos como posibles genes comunes para la presentación y pronóstico de AIJ poliarticular y AR de instalación temprana (34, 36, 37). Sin embargo, es necesario comentar que debido a la estratificación presente en una población multiétnica, como es la del Caribe colombiano, llevar a cabo un estudio con un mayor número de pacientes que involucre un análisis de ligamiento familiar para PTPN22 y HLA-DRB1* en estos pacientes afectados con las dos entidades, podrá validar estos resultados.

Agradecimientos

Expresamos nuestros agradecimientos a todos los pacientes que participaron en este estudio y a Ana Sofía Moreno Woo, por el soporte técnico que aportó en el desarrollo de este proyecto.

Financiación: Esta investigación fue parcialmente financiada por fondos del proyecto referenciado Código: 1215-343-19299 y de fondos provenientes de la Universidad del Norte.

Conflicto de interés: ninguno.

REFERENCIAS

- (1) Guibert TM, Reyes Llerena GA. Artritis Reumatoide Temprana. Reto y enfoque en el nuevo siglo. Rev. Cubana de Reumatología 2005; vol. 7: 7- 8.

- (2) Hinks A, Eyre S, Xiayi Ke, Barton A, Martin P. Overlap Of Disease Susceptibility Loci For Rheumatoid Arthritis And Juvenile Idiopathic. *Arthritis Ann Rheum Dis* 2010;69:1049-1053. doi:10.1136/ard.2009.110650
- (3) Seldin MF, Shigeta R et al. Finnish Case - Control And Family Studies Support PTPN22 R620W Polymorphism As A Risk Factor In Rheumatoid Arthritis, But Suggest Only Minimal Or No Effect In Juvenile Idiopathic Arthritis. *Genes and immunity* 2005 (Issue 6): 720-722.
- (4) Brewer Jr EJ, Bass JC, Baum J, Cassidy JT, Fink C, Jacobs J, Hanson V, Levinson JR, Schaller J, Stilma JS: Current proposed revision of JRA criteria. JRA criteria subcommittee of the diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Section of the Arthritis Foundation. *Arthritis Rheum* 1977; 20 (2 suppl):195.
- (5) Torres V, Torres AMa, Hernandez MaV, Amaro R. Inmunopatogenia De La Artritis Reumatoide. *Conceptos Actuales. Rev. Cubana Med Gen Integr* 1998; vol. 14: 429-433.
- (6) Anaya J, Gomez L, John Castiblanco. Is There A Common Genetic Basis For Autoimmune Diseases? *Clinical And Developmental Immunology* 2006:185-195.
- (7) Rueda B, Orozco G, Sánchez E, Oliver J. Factores Genéticos Comunes en Autoinmunidad. *Reumatol Clin* 2008; 4 (Supl 1):1-4.
- (8) Shih-Chia Liu, Tzu-Yang Chang, Yann-Jinn Lee, Chen-Chung Chu, Marie Lin, Zong-Xian Chen, Hsin-Fu Liu, Ching-Wen Dang, Shih-Chuan Chang, Chyou-Shen Lee, Tien-Ling Chen, And Chun-Hsiung Huang. Influence Of HLA-DRB1 Genes And The Shared Epitope On Genetic. *The Journal of Rheumatology* 2007; 34 (Issue 4):674-680.
- (9) Garavito G, Iglesias A, Egea E, Jaraquemada D, Martínez P, Egea EE. Una aproximación al significado biológico del polimorfismo del complejo mayor de histocompatibilidad. *El Modelo de la Asociación HLA y ARJ. Salud Uninorte* 2002; 16: 53-72.
- (10) Yunis JJ, Salazar M, Deulofeut R et al. DRB1*0404 Allele And Rheumatoid Arthritis In The Guambiano Amerindian Tribe Of Colombia (Resumen). *Arthritis Rheum* 1994; 38(suppl.): 4.
- (11) Begovich AB, Carlton VE, H, Honigberg LA et al. A Missense Single-Nucleotide Polymorphism In A Gene Encoding A Protein Tyrosine Phosphatase (PTPN22) Is Associated With Rheumatoid Arthritis. *Am J Hum Genet* 2004; Issue 75: 330-338.
- (12) Garavito G, Iglesias A, Egea E, Jaraquemada D, Martínez P et al. Una aproximación al significado biológico del polimorfismo del complejo mayor de histocompatibilidad. *El Modelo de la Asociación HLA y ARJ. Salud Uninorte* 2007;16: 53-72.
- (13) Shih-Chia Liu, Tzu-Yang Chang, Yann-Jinn Lee et al. HLA-DRB1 Alleles encoding the "Shared Epitope" are associated with susceptibility to developing rheumatoid arthritis whereas HLA-DRB1 alleles encoding an aspartic acid at position 70 of the B-Chain are protective in Mexican Mestizos. *The Journal of Rheumatology* 2007; vol. 34 (Issue 4): 34-44.
- (14) Sherine G. The Epidemiology Of Rheumatoid Arthritis. *Rheumatic Disease Clinics of North America* 2001; 27 (Issue 2): 269-281.
- (15) Alan JS, Pearson JE. Epidemiology and Genetics of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Res* 2002; 4 (suppl 3):S265-S272.
- (16) Kari, K, Momohara S, Inoue E, Tomatsu T, Hara M, Yamanaka H. Kamatani N. Haplotype analysis revealed no association between the PTPN22 gene And ra in a Japanese population. *Rheumatology* 2006; Issue 45:1345-1348.
- (17) Soumya Raychaudhuri. Recent Advances In The Genetics Of Rheumatoid Arthritis. *Current Opinion in Rheumatology* 2010; 22 (Issue 2):109-118.
- (18) Ramírez ME, Quintana G, Caminos JE, Garcés MF, Cepeda LA, Coral P, Rondón F, Restrepo JF, Romero JM, Martin J, Iglesias A. Asociación entre manifestaciones clíni-

- cas de enfermedades autoinmunes con los polimorfismos de PTPN22, STAT4, CTLA-4 En una población colombiana. *Resúmenes Reumatología Adultos* 2009; 16 (2).
- (19) Garavito G, Yunis EJ, Egea E, Ramírez LA, Malagon C, Iglesias A, De La Cruz OF, Uribe O, Navarro E, Martínez P, Jaraquemada D. HLA-DRB1 alleles and HLA-DRB1 shared epitopes are markers for juvenile rheumatoid arthritis subgroups in Colombian Mestizos. *Human Immunology* 2004 (65): 359-365.
- (20) Garavito G, Malagón C, Ramírez LA, De La Cruz OF, Egea E. Polimorfismo de los alelos de los antígenos de leucocitos humanos hla-drb1 y su asociación con la artritis reumatoidea juvenil en una muestra de niños mestizos colombianos. *Biomédica*;23: 254-262.
- (21) Garavito G. Asociación HLA y artritis reumatoide juvenil. En busca de las bases moleculares dependiente del MHC. [Tesis doctoral]. Universidad autonoma de Barcelona. http://www.tdx.cbuc.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-1025104-170319/ [En línea] [Citado el: 12 de 12 de 2009.]
- (22) Eyre S. Examining the overlap between Genome-Wide rare variant association signals and linkage peaks in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2011; 63 (Issue 6):1522-1526.
- (23) Brand O, Gough S, Heward J. HLA, CTLA-4 and PTPN22: Shared genetic Master-Key to autoimmunity? Cambridge University Press 2005. 23, Vol. 7, Págs. 23-34.
- (24) Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM, Ronnelid JY, Gregersen et al. Gene-Gene And Gene Environment Interactions Involving Hla-Drb1, Ptpn22 and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet* 2007; vol. 80: 867-875.
- (25) Durinovic-Belló I, Nepom GT. Characterizing T-Cell Autoimmunity. *Contemporary Endocrinology, Part 1*; 53-68. DOI: 10.1007/978-1-60327-478-4-4.
- (26) Anura H, Bruce R. The genetics and epigenetics of autoimmune diseases. *Journal of Autoimmunity* 2009; 33 (Issue 1): 3-11.
- (27) Gomez LM, Anaya JM, Gonzalez CI, Pineda-Tamayo R, Otero W, Arango A, Martin J. PTPN22 C1858T Polymorphism In Colombian Patients With Autoimmune Diseases. *Genes And Immunity* 2005; 6:628-631.
- (28) Perricone C. An Overview on the Genetic of Rheumatoid Arthritis: A Never-Ending Story. *Autoimmunity Reviews* 2011 (65): 245-250.
- (29) Hilderson D, Corstjens F, Moons P. Adolescents with juvenile idiopathic arthritis: who cares after the age of 16? *Clinical and experimental rheumatology* 2010; 28 (5): 790-797.
- (30) Källberg H, Padyukov L, Plenge RM, Ronnelid J, Gregersen PK, Annette H. M. van der Helm-van Mil, Toes REM, Huizinga TW, Klareskog L, Alfredsson L. Gene-Gene and Gene-Environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and Smoking in Two Subsets of Rheumatoid Arthritis. 2007. *Am J Hum Genet* 2007; 80:867-875.
- (31) Silva-Ramírez B, Cerda-Flores RM, Rubio-Páez N, Vargas-Alarcon G, Pérez-hernández, Granados Arriola J, Burgos-Vargas R. Association of HLA DRB1 alleles with juvenile idiopathic arthritis in Mexicans. *Clin Exp Rheumatol*; 2010 Jan-Feb;28(1):124-7.
- (32) Louzada-Janior P, Freitas MV, Oliveira RD, Deghaide NH, Conde RA, Bertolo MB, Donadi EA. A majority of Brazilian patients with rheumatoid arthritis HLA-DRB1 Alleles carry both the HLA-DRB1 shared epitope and anticitrullinated peptide antibodies. *Braz J Med Biol Res*;2008 Jun;41(6):493-9.
- (33) Gourraud PA, Boyer JF, Barnetche T, Abbla M, Cambon-Thomsen A, Cantagrel A, Constantin A: A new classification of HLA-DRB1 alleles differentiates predisposing and protective alleles for rheumatoid arthritis structural severity. *Aethritis Rheum* 2006 Feb;54829:593-9.

- (34) Barnetche T, Constantin A, Cantagrel A, Cambon-Thomsen A, Gourraud PA. New Classification of HLA-DRB1 alleles in rheumatoid arthritis susceptibility: A combined analysis of worldwide samples. *Arthritis Res Ther* 2008; 10 (1):R26.
- (35) Lee AT, Li W, Liew A, Bombardier C, Weisman M, Massarotti EM et al. The PTPN22 R620W Polymorphism Associates with RF Positive Rheumatoid arthritis in a dose-dependent manner, but not with HLA-SE Status. *Genes Immun* 2005; 6:129-33.
- (36) Rieck M, Arechiga A, Onengut-Gumuscu S, Greenbaum C, Concannon P, Buckner JH. Genetic Variation In PTPN22 corresponds to altered function of T and b lymphocytes. *J Immunol* 2007; 179:4704-10.
- (37) Vang T, Congia M, Macis MD, Musumeci L, Orru V, Zavattari P, et al. Autoimmune-associated lymphoid tyrosine phosphatase is a gain-of-function variant. *Nat Genet* 2005; 37:1317-9.
- (38) Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum* 2010 Sep; 62(9):2569-81.
- (39) Minden K, Niewerth M. [Juvenile idiopathic arthritis--clinical subgroups and classification]. *Z Für Rheumatol* 2008 Mar; 67(2):100, 102-6, 108-10.
- (40) Weiss JE, Ilowite NT. Artritis idiopática juvenil. *Pediatr Clin N Am* 2005; 52:413-42.