



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Estudio de asociación entre los polimorfismos de repetición de ácido aspártico del gen ASPN y la osteoartritis en un grupo poblacional colombiano

Lady Verónica Rocha Martínez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Maestría en Genética Humana
Instituto de Genética
Bogotá, Colombia
2015

Estudio de asociación entre los polimorfismos de repetición de ácido aspártico del gen ASPN y la osteoartritis en un grupo poblacional colombiano

Lady Verónica Rocha Martínez

Tesis de grado presentada como requisito parcial para el título de
Magister en Genética Humana

Director:

Dr. Federico Rondón Herrera

Codirector:

Dr. Jorge Eduardo Caminos MSc. PhD

Línea de Investigación:

Genética y reumatología

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina, Maestría en Genética Humana
Instituto de Genética
Bogotá, Colombia
2015

A Dios por esta maravillosa prueba.

A mi familia por su apoyo incondicional y paciencia durante mis ausencias.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de Colombia por mi formación profesional y personal,

Al Departamento de Medicina Interna de la Facultad de Medicina y a la Asociación Colombiana de Reumatología por el apoyo y financiación del presente proyecto.

Al Doctor Federico Rondón y Doctor Jorge Eduardo Caminos por su confianza, apoyo y guía en la realización del proyecto.

Al Doctor Carlos Arteaga por su asesoría, dedicación y humanidad.

A los docentes de la Maestría en Genética Humana: Clara Eugenia Arteaga, Harvy Mauricio Velasco, Edgar Garavito, Mauricio Rey y William Usaquén por sus lineamientos, acompañamiento y dedicación durante la maestría.

A mis compañeros Lina Patricia Buelvas, Víctor Fernando Hidalgo, Catalina María Arévalo y Ángela Milena Martín por las lágrimas y sonrisas compartidas a lo largo de este proceso.

Resumen

La osteoartritis humana (OA) es una enfermedad compleja y multifactorial. Compromete principalmente al cartílago, los tejidos blandos de la articulación y al tejido óseo subcondral. Los síntomas aparecen generalmente en la población de mayor edad afectando al 50% de los adultos mayores de 50 años, y alcanzando una prevalencia del 80% en los adultos de 70 años. La asporina, una proteína de la matriz extracelular de cartílago que interactúa directamente con el Factor de crecimiento transformante β (factor de crecimiento responsable de la formación de tejido óseo y su diferenciación), presenta polimorfismos de repetición para la secuencia GAT, la cual ha sido asociada como factor de riesgo a OA de rodilla y de cadera en poblaciones asiáticas. Esta asociación no ha podido ser replicada en poblaciones no asiáticas y se desconoce la tendencia en la población colombiana. En este estudio se evaluó la asociación entre los polimorfismos de repetición de ácido aspártico de asporina y osteoartritis de rodilla, mano y cadera en un grupo poblacional colombiano en un estudio de casos y controles. Se extrajo ADN de sangre periférica tomada a pacientes con OA de rodilla, mano o cadera diagnosticados bajo los criterios radiológicos del Colegio Americano de Reumatología (ACR) y controles sin OA. El grado de severidad de la enfermedad se determinó según la escala de grados radiológicos de artrosis de Kellgren y Lawrence. Se amplificó la región que contiene el polimorfismo de repetición por PCR empleando primers fluoromarcados (6-FAM) y el tamaño de los fragmentos que contienen los polimorfismos se determinó por medio de electroforesis capilar. Se estimó el OR para valorar la susceptibilidad de los polimorfismos y la OA, y otras variables que influyen el desarrollo de la OA como lo son el sexo, índice de masa muscular, grado de severidad y tipo de OA.

El grupo con OA de rodilla consistió de 92 pacientes y el grupo control de 95 pacientes, En esta muestra se identificaron 10 variantes del gen que contienen D8, D10, D11, D12, D13, D14, D15, D16, D17 y D18 repeticiones, el alelo más frecuente fue el D12, con una frecuencia del 42% para los casos y 51% en los controles. En los análisis de asociación de riesgo se encontró que ninguno de los alelos mostró susceptibilidad de riesgo o protección con OA, sin embargo el genotipo D12 – D2 mostró diferencias significativas con un OR de 0.19 (IC 0.02-0.93 p – valor: 0.0198) como factor de protección a OA de mano. Las comparaciones entre sexo, IMC, tipo de OA y grado de clasificación K/L no mostraron diferencias significativas entre casos OA y controles.

PALABRAS CLAVE:

Asporina, Osteoartritis, Polimorfismo, STR, Asociación

Abstract

Osteoarthritis (OA) in humans is a complex and multifactorial condition. It involves primarily cartilage soft tissues of the joint and the subchondral bone tissue. Asporina, a protein of the extracellular matrix of cartilage that interacts directly with transforming growth factor β (factor responsible for the formation of bone tissue growth and differentiation), has repeat polymorphisms for the GAT sequence which has been associated as a risk factor for OA of the knee and hip in Asian populations. This association could not be replicated with populations outside of Asia and the trend is unknown in Colombian populations. In this work the association between the repeat of polymorphisms of aspartic acid of asporine and knee, hand, and hip osteoarthritis in a Colombian population group in a study of cases and controls were evaluated. The DNA was extracted from peripheral blood taken from patients with OA of the knee, hand, or hip based on the criteria of the American College of Rheumatology (ACR) and controls included individuals without OA. The severity of the disease was determined using the osteoarthritis radiographic Kellgren and Lawrence scale. The region containing the repeated polymorphism was amplified with PCR techniques using fluorescent 6-FAM markers. The size of the fragments containing the polymorphisms were determined using capillary electrophoresis. The OR was estimated to assess the susceptibility polymorphisms and OA, and other variables that influence the development of OA such as gender, body mass index, severity and type of OA.

The OA knee group consisted of 92 patients and the control group of 95 patients, from which 10 gene variants were identified: D8, D10, D11, D12, D13, D14, D15, D16, D17 and D18. The gene variant most frequently observed was the D12 with a frequency of 42% in the cases with OA and 51% in controls.

Risk association analysis found that none of the susceptible gene variants showed any risk or protection for OA, however the genotype D12 - D2 showed significant differences with the OR 0.19 (IC 0.02 - 0.93 p - value: 0.0198) protection factor as hand OA. Comparisons of gender, IMC, type of OA and degree of K/ L rating did not show significant differences between OA cases and controls.

Keywords: Asporin, Osteoarthritis, Polymorphism, STR, Association.

Contenido

Agradecimientos	6
Resumen	7
Lista de Figuras	12
Lista de Tablas	13
Abreviaturas	14
1. Introducción	17
2. OBJETIVO GENERAL	18
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
2.2 HIPÓTESIS	18
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. Artrosis	21
4.1 Clasificación OA	21
4.2 Incidencia - Prevalencia OA	23
4.3 Factores de riesgo OA	25
4.3.1 Edad	25
4.3.2 Género	25
4.3.3 Etnia	26
4.3.4 Obesidad	26
4.3.5 Actividad física	26
4.3.6 Actividad profesional	26
4.3.7 Genéticos	27
5. CARTILLAGO ARTICULAR	30
5.1 Fisiopatología del cartílago articular	30
5.2 Componentes moleculares	32
5.2.1 Factor de crecimiento transformante beta - TGF-β	32
5.2.2 Colágeno	33
5.2.3 Proteoglicanos	33
5.2.4 Pequeños proteoglicanos ricos en leucina - SLRP	33
5.2.5 Asporina	34
6. MATERIALES Y MÉTODOS	38
6.1 Tipo de estudio	38
6.2 Tamaño de la muestra	38

6.3 Población	38
6.3.1 Criterios de inclusión	38
6.3.2 Criterios de exclusión	38
6.4 Toma de muestra	38
6.5 Procesamiento en laboratorio	39
6.5.1 Aislamiento ADN	39
6.5.2 Extracción ADN	39
6.5.3 Amplificación de la región del polimorfismo por PCR	39
6.5.4 Análisis de fragmentos	40
6.5.5 Análisis estadísticos	40
7. RESULTADOS	41
8. Discusión	45
CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	53
Encuesta	55

XII **ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS DE REPETICIÓN DE ÁCIDO
ASPARTICO DEL GEN ASPN Y LA OSTEOARTROSIS EN UN GRUPO POBLACIONAL COLOMBIANO**

Lista de Figuras

Figura 1. Representación de las diferencias estructurales de las capas del cartílago.	31
Figura 2 Estructura genómica de la región ASPN.	35
Figura 3 Aislamiento de leucocitos empleando gradiente de densidad.	39
Figura 4 Fragmento de la secuencias del gen ASPN que contiene el polimorfismo de repetición de ácido aspártico (GAT), subrayados se señalan los primers empleados para el proceso de amplificación por PCR.	40

Lista de Tablas

Tabla 1. Clasificación radiológica de la artrosis (Kellgren y Lawrence).	23
Tabla 2. Loci asociados con OA a con significancia en todo el genoma.	28
Tabla 3. Características de los estudios individuales incluidos en el meta-análisis. Tabla tomada de Song et al. 2014. Ref. Referencia, EEUU Estados Unidos de América, RU Reino unido, NS No significativo.	36
Tabla 4. Descripción de los pacientes participantes del estudio de casos y controles	41
Tabla 5. Tipo de artrosis y grado de clasificación K/L por género	41
Tabla 6. Frecuencias alélicas para el polimorfismo de repetición D en asporina, discriminado entre casos y controles.	42
Tabla 7 Asociación de la repetición D de asporina en pacientes con OA de mano, rodilla o cadera.	43
Tabla 8 Distribución de los genotipos del polimorfismo de repetición D en pacientes con OA de mano, rodilla o cadera (A) y en controles (B)	43
Tabla 9 Asociación de los genotipos más frecuentes para la repetición D de asporina en pacientes con OA de mano, rodilla o cadera.	44
Tabla 10 Asociación entre los genotipos más frecuentes para la repetición D de asporina en pacientes con OA de mano, rodilla o cadera y el grado de clasificación K/L 4.	44

Abreviaturas

3'UTR: 3' untranslated región. Región 3' no traducida

5'UTR: 5' untranslated región. Región 5' no traducida

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ADNc: Ácido desoxirribonucleico complementario

AGC1: Agrecano

AR: Artritis reumatoide

ASPN: Gen de aspirina

ASTN2: Astrotactina 2

BNTL2: butyrophilin-like 2

CHST1: Carbohydrate sulfotransferase 1. Carbohidrato sulfotransferasa 1

COL2A1: Collagen, type II, alpha 1. Colágeno tipo II alfa I

D14: Polimorfismo de repetición de ácido aspártico con 14 repeticiones

DOTIL: DOT1-like. Histona H3 metiltransferasa ó símil a DOT1

DVWA: Double von Willebrand factor A domains.

ECM: Extracellular matrix. Matriz extracelular

ER: Estrogen receptor. Receptor de estrógenos

FC: Fibras de colágeno

FILIP1: FILIP1: Filamin-A-interacting protein 1. Proteína 1 de interacción con filamina A

FRZB: Frizzled Related Protein

GDF5: Growth/differentiation factor 5. Factor de crecimiento y diferenciación 5.

GLT8D1: Glycosyltransferase 8 domain containing 1

GNL3: Guanine nucleotide binding protein-like 3. Proteína 3 de unión al nucleótido guanina

GWAS: Genome-wide association study. Estudio de asociación del genoma completo

HBP1: HMG-box transcription factor 1. Factor de transcripción 1 HMG-box

HLA: Human leukocyte antigen. Antígeno leucocitario humano

IL-1 β : Interleucina 1-beta

kg: Kilogramos

K/L: Escala de Kellgren y Lawrence

KLHDC5: Kelch domain-containing protein 5.

LRR: Proteínas ricas en repeticiones de leucina

MCF2L: Guanine nucleotide exchange factor DBS.

MMP: Matrix metalloproteinases. Metaloproteinasas de la matriz

nM: nanomolar

NO: Oxido nitrico

OA: osteoarthritis u osteoartrosis

OMS: Organización Mundial de la Salud

OR: Odds ratio. Razón de momios

pb: Pares de bases

PCR: Polimerase chain reaction. Reacción en cadena de la polimerasa

PG: Proteoglicanos

PTH1H: parathyroid hormone- like hormone. Hormona similar a la paratiroidea

SEN6: Sentrin-specific protease 6. Proteasa específica de sentrina 6

SLRP: Small leucin rich proteoglicans. Pequeños proteoglicanos ricos en leucina

SMAD: Small Mothers Against Decapentaplegic.

TGFβ1: Transforming growth factor beta 1. Factor de crecimiento transformante beta 1

TNF-α: Tumor necrosis factor-α. Factor de necrosis tisular alfa

VDR: Vitamin D receptor. Receptor de Vitamina D

1. Introducción

La osteoartritis u artrosis (OA) es la patología que tiene mayor prevalencia en reumatología. Esta afección ocasiona dolor y alteración de la función articular, generando consecuencias socioeconómicas importantes en la población en general. Es responsable de una morbilidad mayor en los países desarrollados, donde constituye la segunda causa de invalidez, después de las enfermedades cardiovasculares ¹, es la razón de consulta articular más frecuente en un consultorio reumatológico ², constituyéndose a su vez, como la enfermedad articular con mayor prevalencia en la población adulta con una incidencia que aumenta con la edad.

A pesar de ser la más frecuente de las enfermedades articulares, la osteoartritis todavía es insuficientemente conocida, sus causas, su historia natural y su progresión constituyen un desafío para la medicina ². Adicionalmente, el hecho que en sus primeras etapas sea una enfermedad asintomática, dificulta un diagnóstico temprano que permita retrasar su progresión y severidad.

La osteoartritis representa un grupo heterogéneo de condiciones que resultan en frecuentes cambios histopatológicos y radiológicos. Se puede considerar como un trastorno degenerativo que surge de la descomposición bioquímica del cartílago en las articulaciones sinoviales. Actualmente se sabe que la osteoartritis implica no sólo el cartílago articular, sino que también compromete a la articulación en su conjunto incluyendo el hueso subcondral y la membrana sinovial.

Son varios los factores que son considerados como causantes de esta enfermedad, entre los que se destaca un componente genético. En este sentido, análisis de ligamiento y estudios de asociación en más de 90 genes diferentes, han intentado elucidar los genes en los cuales la variación genética contribuye a la susceptibilidad de la OA y la progresión de la enfermedad ³.

La asporina, una proteína de la matriz extracelular expresada en cartílago, contiene un polimorfismo de repetición de ácido aspártico que ha sido asociado con la OA. En el estudio de Kizawa y colaboradores ⁴ (2005) se informó que el polimorfismo de repetición GAT del gen de la asporina estaba asociado con la susceptibilidad a la OA de rodilla y de cadera, y que la presencia del alelo D14 se asociaba con una mayor gravedad radiográfica de OA. En la presente propuesta, se busca evaluar si existe asociación entre los polimorfismos de repetición de ácido aspártico del gen de la asporina y la OA en un grupo poblacional colombiano empleando casos y controles.

2. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la asociación entre los polimorfismos de repetición de ácido aspártico del gen ASPN y Osteoartrosis en un grupo poblacional colombiano.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la frecuencia de los polimorfismos de repetición de ácido aspártico del gen ASPN en pacientes colombianos con osteoartrosis y en controles.
- Evaluar la asociación entre el número de repeticiones de ácido aspártico del gen ASPN y la osteoartritis.
- Identificar si los polimorfismos del gen de la Asporina se relacionan con la severidad de la enfermedad medida bajo parámetros radiográficos en un grupo de pacientes colombianos con osteoartritis.

2.2 HIPÓTESIS

Existe asociación entre pacientes colombianos con osteoatrrosis de rodilla, cadera o mano y los polimorfismos de repetición de ácido aspártico del gen de la asporina.

3. JUSTIFICACIÓN

La osteoartritis es una de las enfermedades más prevalentes y que más discapacidad produce en todo el mundo, lo que ocasiona costos altos para el paciente y la sociedad ⁵. La enfermedad es multicausal y suele ser concomitante con otros trastornos de índole metabólica como la obesidad y la diabetes mellitus tipo II; puede progresar hasta impedir las labores cotidianas y así poner en riesgo la autosuficiencia, lo que acarrea elevados costos económicos y sociales ^{1,3}. A pesar de su importancia, solo en los últimos años se han hecho avances considerables en la comprensión de esta enfermedad, por lo que las estrategias de prevención y las medidas terapéuticas empleadas hasta el momento son insuficientes ⁵.

La OA es una de las mayores causas de discapacidad en los adultos mayores. Afecta a la población mayor de 50 años de edad siendo asociada con limitaciones en actividades rutinarias, discapacidad laboral, mayor obesidad, y menor calidad de vida en el individuo. Cifras obtenidas de estudios en varios países desarrollados sitúan la incidencia de esta enfermedad en casi el 50% de los mayores de cincuenta años y hasta el 80% de los mayores de sesenta años; aproximadamente 26.900.000 adultos en Estados Unidos tienen osteoartritis, y la mayoría de las personas mayores de 65 años de edad la padecen en al menos una articulación, lo cual hace que esta condición sea una de las principales causas de discapacidad en Estados Unidos ⁶. En Colombia no existen datos acerca de la prevalencia ni la incidencia de la enfermedad; sin embargo en la consulta externa de la Unidad de Reumatología de la Universidad Nacional de Colombia cerca del 12% de los pacientes que acuden a consulta tienen diagnóstico de OA.

Debido a su elevada prevalencia y a la alta tasa de discapacidad que acompaña a la enfermedad en las articulaciones como la rodilla o la rótula, la OA es la principal causa de problemas al subir escaleras y caminar que ninguna otra enfermedad y es la razón más frecuente de sustitución completa de rodilla o cadera. El rápido aumento de la prevalencia de esta enfermedad, ya de por sí frecuente, indica que su futuro impacto será creciente en los sistemas de salud pública ⁷. Las implicaciones económicas de la enfermedad son importantes tanto para el paciente como para el sistema de salud debido a los altos costos de atención médica que incluye: medicación, fisioterapia e intervención quirúrgica para el remplazo de la articulación afectada en los casos más avanzados.

Adicional a la alta incidencia de la enfermedad, existe una limitante mayor en el tratamiento de la OA, que se relaciona con la poca capacidad de reparación que tiene el cartílago, como consecuencia, los resultados del daño en este tejido se reflejan en una enfermedad progresiva y degenerativa. Muchos de los pacientes que asisten a consulta lo hacen a causa del dolor, reflejando grados intermedios o avanzados de la enfermedad en donde la integridad y funcionalidad de la articulación ya se encuentran comprometidas.

Puesto que en el desarrollo de la osteoartrosis están implicadas varias citosinas, hormonas y otras moléculas diversas, realizar estudios que permitan aclarar parte del complejo panorama de la osteoartritis es uno de los primeros pasos a seguir en la comprensión de la enfermedad. En Colombia no se han desarrollado investigaciones sobre la proteína asporina y la OA, de hecho, no se cuenta con estudios genéticos que

evalúen la asociación de estos factores, con la predisposición o mayor susceptibilidad de padecer osteoartritis.

Por ello, surge el reto de realizar un primer acercamiento a este tipo de investigaciones e indagar la posible asociación entre los dos factores. Determinando en primera instancia la frecuencia de los polimorfismos del gen de la asporina en una muestra de población colombiana, así como su frecuencia en un grupo de pacientes y controles colombianos e investigar si existe asociación entre el polimorfismo de repetición D de la asporina y la OA primaria de rodilla, mano o cadera.

4. Artrosis

La existencia de la osteoartritis ha sido documentada ampliamente. Existen registros fósiles en animales que vivieron en épocas muy anteriores a la aparición del hombre sobre la tierra ⁸ (que incluyen dinosaurios y réptiles), y por ello, la osteoartritis u osteoartrosis ha recibido el calificativo de la enfermedad más antigua del mundo ¹. Esta enfermedad no ha cambiado sus características patológicas en 100 millones de años, a pesar de los cambios extraordinarios en sus huéspedes animales durante este tiempo; parece ser una parte inmutable de la vida que es ajeno a toda la evolución ⁹. Entre los restos arqueológicos concernientes al hombre, existen ejemplos de osteoartrosis en representantes del Neardental, Cro-Magnon y por supuesto en el hombre moderno. La presencia se hizo más frecuente en la medida en que el humano avanzó en su ciclo evolutivo, lo cual se explica más por la mayor longevidad alcanzada, que por factores ambientales o genéticos ¹.

A pesar de los amplios registros fósiles que evidencian la existencia de la osteoartrosis los registros sobre su antigüedad son controversiales, sobre todo debido a las diferencias en la terminología utilizada: osteoartrosis-osteoartritis, enfermedad degenerativa de las articulaciones, artrosis deformante; así como también debido a la confusión entre OA generalizada y OA secundaria. Sin embargo, una característica común en todas las descripciones patológicas y trastornos relacionados descritos históricamente es la pérdida de cartílago en asociación con el desarrollo de osteofitos y esclerosis del hueso subcondral ⁹.

Actualmente es aceptado que la OA se trata de un grupo de afecciones degenerativas articulares; es decir, la artrosis no es una enfermedad sino un síndrome, manifestación final común de diversas enfermedades que afectan a la articulación ². Como definición la OMS en 1995 lo estableció de esta manera:

La artrosis es la resultante de fenómenos mecánicos y bioquímicos que desestabilizan el equilibrio entre la síntesis y la degradación del cartílago y el hueso subcondral. Este desequilibrio puede ser iniciado por múltiples factores: genéticos, del desarrollo, metabólicos y traumáticos. La artrosis afecta todos los tejidos de la articulación diartrodial.

Se manifiesta por modificaciones morfológicas, bioquímicas, moleculares y biomecánicas de las células y de la matriz extracelular conduciendo a una remodelación, fisuración, ulceración y pérdida del cartílago articular, esclerosis del hueso subcondral con producción de osteofitos y quistes subcondrales ².

4.1 Clasificación OA

Existen múltiples clasificaciones para la OA, aunque todas ellas acaban convergiendo de un modo u otro en la clasificación más conocida, aunque teórica, que divide a las OA en primarias y secundarias en función de su patogenia ¹. La OA primaria se define ampliamente como una condición idiopática que se desarrolla en articulaciones en buen estado en ausencia de un evento desencadenante aparente ¹⁰. En contraste, la OA secundaria corresponde a los casos en los cuales existe un antecedente previo que permite su identificación como factor desencadenante ¹¹; es causada por diferentes condiciones predisponentes reconocidas, que incluyen anomalías anatómicas, traumatismos y trastornos inflamatorios y metabólicos ¹⁰. Aunque la causa primordial en la

OA primaria se desconoce, factores genéticos y fuerzas mecánicas han sido asociadas con el desarrollo y progresividad, definiendo como factores de riesgo: ser mayor a 50 años, registrar una historia familiar con la enfermedad, ser mujer, tener sobrepeso, haber sufrido algún traumatismo en las articulaciones y realizar repetitivamente ejercicios que sobrecarguen las articulaciones ^{11,12}.

Otro tipo de clasificación se relaciona con la presencia de síntomas de dolor, molestia o rigidez en una articulación con OA radiográfica, lo que permite discriminar entre OA sintomática y asintomática ⁷.

Debido a la fuerte influencia de los factores genéticos, del envejecimiento y la deficiencia de estrógenos (relacionada con la menopausia) en la patogénesis y desarrollo de la OA, Herrero-Beaumont y colaboradores propusieron en el 2009 que la OA primaria se clasificara en 3 subconjuntos distintos: el tipo I OA, determinada genéticamente; tipo II OA, hormono dependiente – post-menopáusica (estrógeno); y tipo III OA, relacionada con el envejecimiento ¹⁰.

También se debe mencionar la clasificación según criterios topográficos que divide a las OA en formas localizadas y generalizadas (siendo estas últimas aquellas que afectan a tres o más articulaciones) ¹. Dentro de las formas localizadas se distinguen: la artrosis en manos (nódulos de Heberden y Bouchard), pie (hallux valgus, hallux rigidus), rodilla (compartimento medial, lateral y femorrotuliano), cadera (excéntrica, concéntrica o difusa), de columna (articulaciones apofisarias, discos vertebrales, espondilosis, hiperóstosis), y otras localizaciones aisladas. La osteoartrosis puede afectar prácticamente a cualquier articulación del ser humano, pero las localizaciones más frecuentes de esta enfermedad son las manos, la columna, las rodillas, la cadera y el primer dedo de los pies.

Debido a las limitaciones que se generan al emplear criterios radiológicos en el diagnóstico de la OA. El Colegio Americano de Reumatología ha postulado unos criterios clasificatorios para OA de rodilla, cadera, y manos que conjugan los parámetros clínicos clásicos con parámetros biológicos y radiológicos. Estos criterios proporcionan una sensibilidad y especificidad de alrededor de un 90% ¹. En el estudio de la progresión de artrosis mediante RX, se comparan los cambios en el espacio articular, la aparición de osteofitos y los cambios en el hueso subcondral. Para calificar estos cambios se utiliza la Escala de grados radiológicos de artrosis de Kellgren y Lawrence ¹³. Esta escala de gradación de la artrosis se originó en los años 50 y permite una valoración global estandarizada de la artrosis ¹. Este sistema distingue 5 niveles de OA, de 0 a 4, caracterizando la enfermedad por la presencia de un osteofito definido y sus niveles más graves por la previsión de aparición sucesiva de estrechamiento del espacio articular, esclerosis, quistes y deformidad ⁷. En la Tabla 1 se lista la clasificación de Kellgren y Lawrence.

Grado	Características
0	Normal
1	Dudoso Dudoso estrechamiento del espacio articular Posible osteofitos
2	Leve Posible estrechamiento del espacio articular Osteofitos
3	Moderada Estrechamiento del espacio articular Osteofitos Leve esclerosis Posible deformidad de los extremos de los huesos
4	Grave Marcado estrechamiento del espacio articular Abundantes osteofitos Esclerosis grave Deformidad de los extremos de los huesos

Tabla 1. Clasificación radiológica de la artrosis (Kellgren y Lawrence).

Fuente: Gracia San Román FJ, Calcerrada Díaz-Santos N. Grupo de trabajo de la guía de práctica clínica del manejo del paciente con artrosis de rodilla en Atención Primaria. Guía de Práctica Clínica del manejo del paciente con artrosis de rodilla en Atención Primaria. Madrid: Unidad de Evaluación de Tecnologías Sanitarias (UETS), Área de Investigación y Estudios Sanitarios. Agencia Laín Entralgo; Septiembre 2006.

4.2 Incidencia - Prevalencia OA.

La artrosis es la enfermedad articular más frecuente de los países desarrollados, aunque su real incidencia y prevalencia son desconocidas ². Es la causa más importante de discapacidad funcional del aparato locomotor en todas las razas y zonas geográficas ¹⁴. En los últimos estudios epidemiológicos se marcan pequeñas diferencias respecto a la afectación por zonas geográficas, es posible atribuir éstas diferencias a condiciones establecidas sobre un área específica o como consecuencia de actividades laborales ².

Existen numerosas estimaciones de la prevalencia de la OA que son muy variables dependiendo de la articulación, del sexo, de la edad y de la etnia ¹⁵. Adicionalmente, al estudiar la prevalencia de la OA debe tenerse en cuenta que en esta enfermedad existe una importante disociación clínico-radiológica. Así, menos del 50% de la población con cambios radiológicos padece algún tipo de síntoma relacionado con la enfermedad y más del 70% de los pacientes mayores de 50 años tienen signos radiológicos compatibles con OA en alguna localización ¹. La prevalencia e intensidad de la artrosis se incrementa con el envejecimiento de la población porque esta condición es irreversible ¹¹, siendo rara en menores de 45 años que muestren evidencia radiológica grave ¹.

Las estimaciones del riesgo a desarrollar OA durante la vida de un individuo es de 24% para OA de rodilla, 11% para OA de cadera y un 43% para OA de mano ¹⁵. Neogi y Zhang describen en su última recopilación sobre la epidemiología de la artrosis que una

estimación del riesgo de desarrollar artrosis de rodilla sintomática es de 40% en hombres y 47% en mujeres, con un mayor riesgo entre aquellos que son obesos ¹⁶.

A nivel general, alrededor del 50% de los mayores de 65 años presenta signos radiológicos de artrosis en las manos, mientras que la prevalencia de artrosis asintomática es del 10% en este mismo grupo de edad, y quizás ronde el 5% de la población general adulta ¹. Es más frecuente en mujeres que en hombres con una relación 2:1 o mayor ¹⁷. En Europa, la prevalencia de artrosis de las manos se ha calculado en 10% entre los individuos de 40 a 49 años. En mujeres mayores de 70 años puede alcanzar el 90% y, en los hombres, el 80% ¹⁴. En Estados Unidos, alrededor de un tercio de los adultos entre 25 y 74 años tienen cambios artrósicos al menos en una localización, siendo la más frecuente la artrosis de las manos ¹⁷.

Con relación a la artrosis de rodilla existe una gran discordancia entre la prevalencia de síntomas y de signos radiológicos. La prevalencia de la artrosis radiológica en mayores de 40 años se estima alrededor del 20%. Los signos radiológicos aumentan progresivamente con la edad, más rápido en mujeres y en personas obesas ¹.

La artrosis de cadera o coxartrosis es una enfermedad relativamente frecuente a partir de los 50-55 años, a esta edad puede presentarse en alrededor del 20-30% de la población ¹¹. La prevalencia en mayores de 40 años probablemente está por debajo del 5%. No hay claras diferencias en cuanto a prevalencia o gravedad entre sexos, aunque hay una tendencia a ser más frecuente en hombres. Se ha visto que este tipo de artrosis es más frecuente en poblaciones occidentales que en asiáticas y africanas ¹.

Con relación a la incidencia de artrosis existen muy pocos datos debido a la dificultad de definirla y de identificar el momento en el que comienza ¹⁷. Según la OMS, las enfermedades reumáticas representan el tercer problema de salud más importante en los países desarrollados y, entre ellas, la artrosis es la más frecuente ya que afecta al 80% de la población mayor de 65 años en los países industrializados. En este sentido, en el informe de la Segunda Asamblea Mundial de Envejecimiento a cargo de la Organización de Naciones Unidas (Madrid, 2002) se proyecta que la esperanza de vida media habrá aumentado a 76 años, y que el número de personas con más de 60 años llegará a casi 2.000 millones en el 2050 ¹⁸, lo que indiscutiblemente conllevará a un aumento en la incidencia de la enfermedad.

Actualmente se estima que la incidencia anual de la artrosis en mayores de 50 años es del 2% para signos radiográficos en rodilla y del 2,8% para manos, del 1% para artrosis sintomática de rodilla y del 4% de progresión radiológica ¹. Las tasas de incidencia por edad y sexo para las manos, la cadera y la OA de rodilla sintomática se han estimado en 100, 88 y 240 casos por 100.000 personas-año, respectivamente, con tasas de incidencia creciente bruscamente después de los 50 años, y estabilizándose después de los 70 años ¹⁶.

Finalmente es importante mencionar las diferencias étnicas que se han observado en la prevalencia de la OA. En el Proyecto Johnston County OA, los hombres afroamericanos

tenían una mayor prevalencia de la artrosis de cadera radiográfica que los hombres de raza blanca (32,2% vs. 23,8%), mientras que no hubo diferencias entre los afro-americanos y las mujeres caucásicas (40,3% vs. 39,4%). En los estudios desarrollados por Braga y colaboradores¹⁹ y Nelson y colaboradores²⁰ se señaló que la prevalencia de OA de mano y cadera eran menores en poblaciones chinas que en poblaciones caucásicas (44,5 - 47% vs. 75.2 - 85% y 0,8% vs. 3,8 - 4,5%, respectivamente), sin embargo la OA de rodilla fue más frecuente entre las mujeres chinas que en mujeres de raza blanca (46,6% vs. 34,8%).

4.3 Factores de riesgo OA

La OA presenta una etiología multifactorial y puede ser considerada como el producto de la interacción entre factores sistémicos (a nivel del individuo) y locales (a nivel de la articulación). La importancia relativa de los factores de riesgo varía en las articulaciones, en las diversas fases de la enfermedad y en las manifestaciones radiográficas comparadas con las sintomáticas⁷.

A través de los estudios epidemiológicos ha sido posible determinar los factores de riesgo implicados en el desarrollo de la OA. Los factores de riesgo a nivel de persona muestran una fuerte evidencia sobre la incidencia y progresión de la enfermedad, entre estos se incluyen: la edad, el sexo, los antecedentes familiares y la obesidad. Por otra parte, los factores de riesgo a nivel de la articulación incluyen: carga articular por lesiones u ocupación, y asociaciones entre lesión y alineación articular con la progresión de la osteoartritis. Los niveles moderados de actividad física no se han relacionado con un mayor riesgo a osteoartritis. Algunos temas de alto interés reciente o nuevas pruebas para la asociación con la osteoartritis incluyen rutas metabólicas, vitaminas, forma de la articulación, densidad ósea, longitud del miembro, desigualdad, fuerza muscular y masa, y daño estructural temprano²¹.

4.3.1 Edad

La edad es el factor de riesgo más fuertemente asociado con la OA, debido a cambios morfológicos relacionados con la edad en el cartílago articular y la capacidad de los condrocitos de mantener y reparar el tejido, debido a una disminución de su actividad sintética y mitótica, exhibiendo una disminución en la respuesta a factores de crecimiento anabólicos y una síntesis de pequeños y menos uniformes agregados de proteoglicanos y pocas proteínas funcionales²². La estrecha relación de la artrosis con el envejecimiento se demuestra con el crecimiento exponencial del número de casos afectados: 2 al 3% en la cuarta década de la vida a más del 80% después de los 80 años².

4.3.2 Género

Existen diferencias entre mujeres y hombres en la prevalencia, incidencia y severidad con OA²². Las mujeres presentan una mayor probabilidad de padecer OA que los varones, así como de que esta sea grave y afecte a un mayor número de articulaciones⁷. Hasta los cincuenta años aproximadamente, no hay diferencias notables respecto a la prevalencia de la artrosis primaria con relación al sexo; sin embargo la diferencia se hace notable después de los cincuenta y cinco años, edad en la cual la enfermedad afecta más frecuentemente a la mujer. Estas características se relacionan también con el tipo de articulación afectada; se lesionan con mayor frecuencia las interfalángicas distales y rodillas en la mujer y las metacarpofalángicas y coxofemorales en el hombre².

4.3.3 Etnia

La artrosis tiene una distribución universal, es decir que no se observan variaciones geográficas². La prevalencia de la OA y los patrones de las articulaciones afectadas por ella varían en los distintos grupos raciales étnicos⁷; la raza negra se ve afectada con menos frecuencia que la blanca para todo tipo de artrosis. También se observó menor prevalencia en los esquimales².

Aunque las diferencias en factores como el índice de masa corporal y los estilos de vida o los factores socioeconómicos pudieran explicar parcialmente la variación étnica, las diferencias étnicas en biomarcadores de síntesis y degradación del cartílago sugieren que los factores biológicos y genéticos también pueden desempeñar un importante papel²³.

4.3.4 Obesidad

Un factor de riesgo importante en la OA es la obesidad. No se conocen todavía los mecanismos de esta asociación, pero existen al menos tres teorías: a) el sobrepeso aumentaría la presión sobre una articulación de carga; b) la obesidad actúa indirectamente induciendo cambios metabólicos tales como intolerancia a la glucosa, hiperlipemia o cambios en la densidad ósea, y c) determinados elementos de la dieta que favorecen la obesidad producen daño en el cartílago, el hueso y otras estructuras articulares²³.

La hipótesis más aceptada es la primera; pero está no explicaría la relación que existe entre la obesidad y la artrosis de manos²². Por lo tanto, al estudiar la obesidad como factor de riesgo, se deben considerar factores sistémicos y locales²³.

4.3.5 Actividad física

Las articulaciones normales en general toleran muy bien impactos leves y prolongados causados por el ejercicio²³. La actividad física puede tener beneficios para la articulación mediante el fortalecimiento de los músculos periarticulares que ayudan a estabilizar la articulación, pero puede ser potencialmente perjudicial si se coloca carga excesiva en la articulación, sobre todo una que ya es vulnerable debido a otros riesgos¹⁶. Individuos con alteraciones anatómicas en las articulaciones o que hayan sufrido algún tipo de lesión serán más propensos a la OA y la progresión de la enfermedad²³.

Se ha demostrado que las personas que participan en algún tipo de deporte tienen un riesgo mayor de desarrollar OA comparado con personas sedentarias, este riesgo agregado es causado principalmente por una lesión articular. Evidencias experimentales y clínicas muestran que las articulaciones son principalmente dañadas por el impacto y la torsión de carga. Lo anterior depende de la naturaleza del deporte, los deportes con mayor riesgo son aquellos que involucran repeticiones, una alta intensidad y una mayor fuerza de impacto de la articulación afectada. También influye la frecuencia con que se practique²².

4.3.6 Actividad profesional

El uso repetitivo y la sobrecarga mecánica a la que se someten algunas articulaciones en determinadas profesiones predispone a la aparición de la artrosis¹⁶. El número de horas de trabajo, la intensidad y el tipo de actividad, como permanecer de rodillas o levantar

pesos de 25 kg o más, se relacionan con la presencia y gravedad de la enfermedad. La actividad laboral que más se ha relacionado con la OA de cadera es la de los agricultores, mientras que la OA de manos es mayor de la esperada en trabajadores que realizan trabajos manuales en comparación con otro tipo de trabajadores ²³.

4.3.7 Genéticos

Puesto que la presente tesis se centra en el análisis de asociación entre los polimorfismos de repetición del gen que codifica la asporina, el componente genético se desarrollará ampliamente demostrando su influencia en la patogenia de la artrosis.

A pesar de la naturaleza multifactorial de la artrosis, desde los años cincuenta se sabe que ciertas formas de osteoartritis están relacionadas con un fuerte componente genético. Las bases genéticas de esta enfermedad no siguen los patrones típicos de herencia mendeliana y probablemente estén relacionadas con alteraciones en múltiples genes. La identificación de un elevado número de genes candidatos a conferir susceptibilidad a la osteoartritis pone de manifiesto la compleja naturaleza de la enfermedad ²⁴. La evidencia disponible sugiere que los factores genéticos pueden contribuir a desencadenar y acelerar el curso de la enfermedad, aunque el papel de los genes implicados aún no está claro ²⁵. A su vez, con la evolución en la detección de factores genéticos relevantes en la patogénesis de la OA y en general de las enfermedades reumáticas ha sido posible definir tres características: 1) los factores genéticos tienen una baja penetrancia (aumentan de forma moderada el riesgo) y, por tanto, sólo una pequeña fracción de los sujetos que portan el alelo de susceptibilidad van a padecer la enfermedad; 2) los factores no son imprescindibles para que se produzca la enfermedad, por lo que pacientes de la misma enfermedad van a tener un componente genético parcialmente diferente; 3) el efecto de cada factor genético depende críticamente de la presencia de otros factores, tanto genéticos como ambientales ¹.

Los primeros estudios genéticos que han permitido mostrar el componente hereditario de la OA y su naturaleza poligénica han sido los estudios de segregación en familias, estudios de gemelos y de riesgo relativo entre hermanos ²⁶. Las estimaciones de heredabilidad para la OA en las articulaciones afectadas más comunes (manos, caderas, rodillas y la columna vertebral), se encuentran en un rango de 39 a 74%, mientras que la estimación de la heredabilidad de la enfermedad en varias articulaciones oscila en un 78% ², lo que sugiere una susceptibilidad o predisposición genética significativa a la osteoartritis para múltiples articulaciones o localizada. Para OA de rodilla y OA de mano la heredabilidad se sitúa en torno al 40-65%, mientras que para OA de cadera sería aproximadamente de un 60%. La OA de columna es la que presenta una heredabilidad más elevada de un 70% ²⁷. Uno de los primeros estudios genéticos de OA fue llevado a cabo en 1941 por Stecher, quien demostró que la presencia de nódulos de Heberden en los dedos de las manos con osteoartritis eran 3 veces más comunes en hermanas gemelas que en la población en general, y concluía que estas lesiones eran heredadas de forma autosómica dominante, con una elevada prevalencia en mujeres ²⁴. La evolución en el conocimiento sobre el origen y patogénesis de la OA ha avanzado con el desarrollo de nuevas tecnologías permitiendo desarrollar estudios de genes candidato, estudios de ligamiento de genoma completo, estudios de asociación caso-control, GWAS (estudios de asociación de genoma completo) y meta-análisis; los cuales describen las principales estrategias de estudio que se han llevado a cabo en el campo de la genética de la OA. Parte de los problemas para encontrar nuevos loci asociados viene dada en parte por la

propia naturaleza poligénica de la enfermedad. Así, múltiples polimorfismos con distintas frecuencias alélicas contribuyen con efectos pequeños o modestos. Sin embargo, también existen otras dificultades específicas de la OA que se deben fundamentalmente a la heterogeneidad de la enfermedad y la definición de controles.

Los estudios de ligamiento han llevado a la identificación de diversas regiones de ligamiento en OA de cadera, rodilla y mano, aunque la mayoría de los hallazgos no han tenido una repercusión importante ni han sido replicados posteriormente ⁶. El estudio de genes candidatos está orientado a la búsqueda de alteraciones en un gen específico, por lo que se requiere un conocimiento tanto de su función como de su posible papel en la enfermedad ¹⁴. Los genes candidatos estudiados en OA se pueden dividir de una forma genérica en tres grandes grupos ⁶:

1-Genes que codifican componentes de la ECM.

2-Genes que codifican reguladores del anabolismo o catabolismo de la ECM.

3-Genes que codifican moléculas inflamatorias.

Algunos genes relacionados con el proceso artrósico se reflejan en la Tabla 2 ²⁸.

Gen*	Articulación	Género	Población
GDF5	Rodilla	Ambos	Europea y asiática
HBP1 (7q22)	Rodilla	Ambos	Europea
MCF2L	Rodilla	Ambos	Europea
DVWA	Rodilla	Ambos	Asiática; no europea
HLA clase II/III – BNTL2	Rodilla	Ambos	Asiática; no europea
GNL3/GLT8D1	Rodilla + cadera	Ambos	Europea
ASTN2	Cadera	Mujeres	Europea
FILIP1/SENP6	Cadera	Ambos	Europea
KLHDC5/PTHLH	Cadera	Ambos	Europea
CHST1 1	Cadera	Ambos	Europea
DOTIL	Cadera	Hombres	Europea

**Tabla 2. Loci asociados con OA a con significancia en todo el genoma.
Fuente: A. Gonzalez / Osteoarthritis and Cartilage 21 (2013) Pág. 1444**

La evidencia de estudios familiares y de gemelos ha confirmado que el factor hereditario es determinante en la aparición de la artrosis, especialmente en el sexo femenino y cuando hay afectación de un número importante de articulaciones, puntualmente cuando hay compromiso de más de cinco. La concordancia de artrosis fue constatada en el 57% de los gemelos monocigotos y en el 33% de los dicigotos ²⁹. También se han identificado algunos subgrupos de artrosis que muestran un patrón hereditario definido. Trabajos recientes de biología molecular han demostrado que artrosis familiares de cadera y rodilla son determinadas por una anomalía del gen codificador para el telopéptido del procolágeno II: en la posición 519 del gen, la secuencia de bases codifica una arginina en vez de una cisteína. Esta simple modificación de un aminoácido en la composición del colágeno lleva a la aparición precoz de un subgrupo de artrosis. También existen evidencias de que algunas formas de artrosis poseen un patrón de herencia mendeliana dominante, este esquema se asimila a la artrosis primaria generalizada que se transmite de madres a hijas como una clara muestra de agregación familiar ².

En cuanto a los estudios genéticos moleculares, estos se han enfocado al entendimiento de las vías de señalización y mecanismos metabólicos involucrados en la pérdida del cartílago articular y progresividad de la enfermedad. Los análisis de ligamiento y estudios de asociación de más de 90 genes diferentes, han intentado elucidar los genes en los que la variación genética contribuye a la susceptibilidad de la OA y la progresión de la enfermedad ³⁰. Diversos estudios sugieren que el colágeno tipo 2 alfa 1 (COL2A1), el receptor de Vitamina D (VDR), el receptor de estrógenos (ER), el agregano, y el factor de crecimiento transformante β (TGF β 1), están asociados con la OA³. Aunque los estudios se han enfocado en otros tres genes también relacionados con el desarrollo y mantenimiento óseo de las articulaciones. Uno de estos es el gen FRZB que regula el desarrollo del esqueleto y la masa ósea, polimorfismos en este gen son asociados con un aumento en la probabilidad de cuatro veces para la OA de cadera en mujeres. Una segunda asociación se relaciona con polimorfismos en el gen de la interleucina-1, el cual puede reducir o aumentar la probabilidad de sufrir OA de rodilla en unas cuatro – cinco veces en la población del Reino Unido, dependiendo del polimorfismo específico. Una tercera asociación, confiere un aumento en la probabilidad de 1.7 a 2.6 veces de tener OA de rodilla o cadera en individuos japoneses, y se relaciona con polimorfismos de repetición de ácido aspártico (D) en el gen de la asporina (ASP), se ha encontrado un aumento en la expresión de la proteína en individuos con OA de cadera y rodilla ⁴.

5. CARTILLAGO ARTICULAR

Como se ha descrito anteriormente, son diferentes los factores que están involucrados en el desarrollo de la artrosis: los eventos traumáticos son la causa principal, pero otros factores como la predisposición genética, mal alineamiento, obesidad, vejez y mal nutrición conllevan a alteraciones similares en el cartílago articular. Lamentablemente, este cartílago tiene una capacidad limitada para auto-regenerarse; en las ocasiones en las que la regeneración se presenta se forma como respuesta a la pérdida de cartílago fibroso y en su mayoría se reducen las capacidades mecánicas en comparación con el cartílago hialino saludable. Adicionalmente, los cambios artrósicos suelen ser diagnosticados en una etapa avanzada, cuando es particularmente difícil un tratamiento que permita la regeneración del cartílago ³¹. Por ello, es importante conocer las características y los mecanismos moleculares en un cartílago sano y las modificaciones subyacentes a la destrucción del cartílago en la OA permitiendo comprender mejor la patogénesis de esta enfermedad y a su vez desarrollar y mejorar los enfoques diagnósticos y terapéuticos.

En la morfogénesis del esqueleto los procesos de la formación de las articulaciones y la diferenciación del cartílago están estrechamente relacionados. La regulación de la diferenciación de los condrocitos y la homeostasis de la matriz extracelular son fundamentales para la función adecuada de la articulación ³². Las articulaciones que sufren de OA se caracterizan por presentar una alteración del equilibrio entre la síntesis y el catabolismo de la matriz extracelular, que favorece la destrucción del cartílago ya sea por falta de sustrato o por activación de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) ⁵.

5.1 Fisiopatología del cartílago articular

El cartílago hialino o diartrodial es un tejido muy especial puesto que no tiene relación directa con los vasos sanguíneos, linfáticos y el sistema nervioso. Esto hace que la respuesta a los procesos inflamatorios o mecánicos sea totalmente diferente al de otros tejidos vascularizados e inervados. No por ello deja de ser un tejido complejo, metabólicamente activo y con un elevado grado de heterogeneidad estructural ². El cartílago articular es una estructura altamente especializada; es un componente fundamental del sistema esquelético en áreas donde se requiere de una arquitectura semisólida para dar forma, fuerza, flexibilidad y resistencia al tejido esquelético. Actúa como un componente intermedio en procesos de crecimiento y reparación ósea, estando presente desde el periodo embrionario en las epífisis, placas de crecimiento primario y secundario, así como en áreas de reparación de fracturas ²⁵. Impide el daño articular secundario a la carga mecánica generada por el movimiento, gracias a que disminuye la fricción, es resistente a la tensión y a la compresión y se adapta a condiciones cambiantes⁵. Carece de inervación, vasos sanguíneos y linfáticos y membrana basal, y se nutre del líquido sinovial ¹¹. Está compuesto básicamente por agua (60% de su peso) y por una matriz extracelular formada por proteoglicanos (PG) y fibras de colágeno (FC) principalmente de tipo II, sintetizados por la única célula residente del cartílago, el condrocito. Este tejido está aislado de otros circundantes por la membrana sinovial, que es impermeable al paso de macromoléculas pero permite la difusión de nutrientes y oxígeno ⁵.

La estructura y composición del cartílago articular varían desde la superficie articular hasta el hueso subcondral. Estas diferencias incluyen el volumen y la forma de las células, así como el diámetro y la concentración de proteoglicanos²².

Los condrocitos se diferencian en sus características morfológicas y funcionales según la zona del cartílago donde se ubiquen. Los de la zona superficial están en contacto con el líquido sinovial, presentan una apariencia alargada que contrasta con los de las zonas intermedia y profunda que son redondeados (Ilustración 1)⁵.

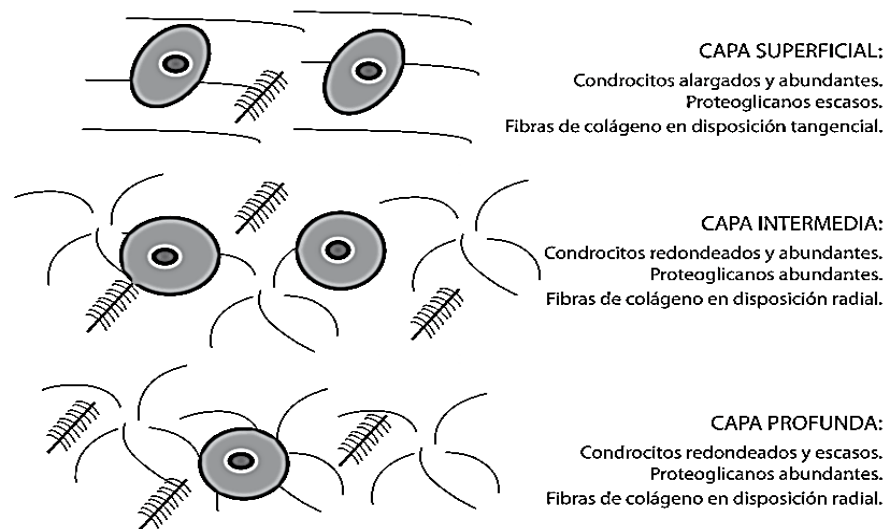


Figura 1. Representación de las diferencias estructurales de las capas del cartílago. Imagen tomada de Sánchez & López, 2011. Fisiopatología celular de la osteoartritis: el condrocito articular como protagonista. Iatreia Vol. 24 (2): Página 169

El condrocito es el elemento celular del cartílago y es el responsable de la síntesis y del mantenimiento de la matriz extracelular a través de la liberación, por parte de estas células, de una serie de moléculas sintetizadas y degradadas durante las actividades de anabolismo y catabolismo que, en condiciones normales, se mantiene en equilibrio¹¹. Si hay disminución en el proceso de síntesis, el cartílago se tornará más delgado y débil; si, por el contrario, hay un aumento en la síntesis de matriz el cartílago será hipertrófico y desordenado y se favorecerá la formación de osteofitos⁵.

El condrocito responde a las condiciones fluctuantes del medio, generadas por los cambios de presión, modificando su composición iónica y alterando el transporte de solutos y agua en su membrana. Esta capacidad de respuesta es clave para el mantenimiento de la matriz extracelular y por ende, de un cartílago funcional. Una respuesta inadecuada del condrocito ante la carga mecánica, conlleva a un predominio del catabolismo de la matriz y a un cartílago defectuoso que es la base del desarrollo de la osteoartritis⁵.

Para el mantenimiento de la homeostásis de la matriz extracelular cartilaginosa es importante el mantenimiento del número de células, el cual depende de un equilibrio entre el nacimiento (mitosis) y la muerte celular. En la OA se produce una importante

disminución del número de células, en la que juega un papel muy importante la muerte celular por apoptosis. Dicha apoptosis se detecta principalmente en las zonas superficiales e intermedias del cartílago y presenta una clara implicación de mediadores celulares como el óxido nítrico (NO), la interleucina 1-beta (IL-1 β) y el factor de necrosis tisular alfa (TNF- α)¹.

Otro de los componentes importantes en las articulaciones corresponde a la membrana sinovial, la cual reviste la cara interna de la articulación diartrodial. Suele ser lisa y brillante y posee abundantes vasos sanguíneos, nervios y vasos linfáticos. Fabrica el líquido articular, que lubrica y nutre al cartílago avascular, y regula la presión y la temperatura local. También participa en la defensa y la respuesta inmunitaria articular. En condiciones normales, posibilita el movimiento indoloro de la articulación. En el proceso artrósico, la inflamación de esta membrana está fuertemente relacionada con el proceso de cronificación y progresión de la enfermedad. Varios factores desencadenantes son propuestos en esta relación: las sobrecargas mecánicas, los microcristales y determinados productos procedentes de la degradación del cartílago¹⁷.

El hueso subcondral de las articulaciones afectadas por artrosis es rígido y de aspecto denso¹. Teniendo presente que la artrosis se define como la degradación y pérdida del cartílago articular, acompañado por cambios hipertróficos del hueso con la formación de osteofitos y rigidez del hueso subcondral, es clara la participación de éste componente en la etiopatogenia de la artrosis. De hecho, algunas teorías defienden que la artrosis es una enfermedad ósea más que cartilaginosa, puesto que los pacientes con artrosis tienen de forma significativa más hueso (independientemente del peso corporal). Uno de los posibles mecanismos de iniciación de la artrosis es la rigidez del hueso subcondral. Una vez iniciado el daño en el cartílago, la rigidez del hueso puede contribuir a una progresión más rápida de la artrosis¹⁷. No se conocen de forma completa los mecanismos que conducen a los cambios observados en el hueso subcondral de los pacientes artrósicos, pero determinados estudios demuestran que no se deben únicamente a las repercusiones de la sobrecarga mecánica, también se han encontrado niveles elevados del factor de crecimiento de la insulina (IGF) en pacientes con OA, en zonas alejadas de la articulación afectada¹.

5.2 Componentes moleculares

5.2.1 Factor de crecimiento transformante beta - TGF- β

Las funciones fisiológicas y fisiopatológicas de TGF- β son extensas, ya que casi todos los tipos celulares pueden secretarlo y además expresar sus receptores³³. Es un factor de crecimiento que está implicado en el control de la proliferación, migración, diferenciación y supervivencia de muchos tipos de células diferentes. Influye en diversos procesos como la embriogénesis, la angiogénesis, la inflamación y la cicatrización de heridas³⁴. En los mamíferos, hay tres isoformas de TGF- β , llamado β 1, β 2 y β 3. Todas las isoformas muestran un alto grado de homología entre 84 y 92%³³, aunque en la mayoría de las células y tejidos el TGF- β 1 es la isoforma predominante³⁵. En el tejido esquelético TGF- β 1 juega un papel importante en el desarrollo y mantenimiento del cartílago y el metabolismo óseo³⁴.

La activación del receptor del TGF- β propicia su fosforilación en residuos de serina / treonina y dispara la fosforilación de proteínas efectoras intracelulares (Smad), que una

vez activas inducen la transcripción de genes blanco, y así regulan procesos y funciones celulares. Las proteínas Smad son hasta ahora los únicos sustratos identificados de los receptores tipo I y son consideradas como proteínas transductoras citoplásmicas, proteínas efectoras intracelulares o como mediadores intracelulares de la vía del TGF- β . Alteraciones en sus señales pueden contribuir a la patogénesis de enfermedades tan diversas como las enfermedades autoinmunes, la fibrosis y el cáncer. La falta de TGF- β o una anomalía en la señalización de TGF- β aparentemente resulta en el fenotipo cartilago que se asemejan a la patología del cartilago en la OA ³³.

5.2.2 Colágeno

El colágeno es una proteína extracelular compuesta por tres cadenas polipeptídicas (cadenas α) que tienen una secuencia característica (gly-x-y). Las tres cadenas α se entrelazan entre sí formando una estructura que se estabiliza por puentes de hidrogeno en la glicina y uniones covalentes por la hidrolisina, La función principal del colágeno en el cartilago es proporcionar al tejido propiedades tensiles e inmovilizar los proteoglicanos en la matriz extracelular ²².

5.2.3 Proteoglicanos

Dado que el agua no está retenida por membranas en el cartilago, su concentración y volumen depende de la interacción con las moléculas de la matriz. Los proteoglicanos son moléculas formadas por la unión de proteínas y glucosaminoglicanos (anteriormente llamados mucopolisacáridos) que están distribuidos entre las fibras de colágeno II ². Los proteoglicanos están formados por un esqueleto de ácido hialurónico, al cual se unen monómeros de glucosaminoglicanos formando ramificaciones que se estabilizan por medio de proteínas de unión; los más comunes son el condroitín-sulfato, el queratán-sulfato y el ácido hialurónico ⁵; sus porcentajes en la constitución de la matriz extracelular varían de acuerdo a la edad y a la localización, el queratán es prevalente en los ancianos y en las zonas más profundas del cartilago mientras que el condroitín sulfato es mayor en las primeras etapas de la vida. Los glucosaminoglicanos se sintetizan en el condrocito y luego se excretan, su unión al proteoglicano correspondiente es extracelular ².

Por sus características fisico-químicas y estructurales los proteoglicanos mantienen una elevada carga negativa en su superficie; las fuerzas repelentes de los grupos con cargas del mismo sentido hace que los proteoglicanos se dispersen y expandan, hasta que las fuerzas elásticas se equilibren debido a la acción de las fuerzas tensionales de las fibras de colágeno. Este mecanismo es el que confiere al cartilago articular la capacidad elástica y permite que desde o hacia la superficie puedan ser transportados los nutrientes, productos de degradación, mensajeros químicos y hormonas ². El proteoglicano más abundante en el cartilago articular humano es el agrecano que constituye el 90% de la masa total de proteoglicanos ².

5.2.4 Pequeños proteoglicanos ricos en leucina - SLRP

Son un grupo de proteínas extracelulares que pertenecen a la superfamilia de proteínas ricas en repeticiones de leucina, quienes son uno de los componentes principales de la matriz extracelular no colágena ⁵. Los miembros de esta subfamilia tienen su núcleo proteico similar en tamaño (alrededor de 40 kilodalton) el cual contiene un dominio central compuesto de 6 a 10 repeticiones en tándem ricas en leucina. Este dominio está delimitado por las regiones N-terminal y C-terminal menos conservadas y pequeñas que

contienen cisteínas en posiciones características³⁶. Los miembros de esta familia se unen al factor de crecimiento transformante beta - TGF- β , un factor de crecimiento clave en el metabolismo del cartílago, y para otras moléculas de la matriz extracelular de cartílago, incluyendo colágenos⁴.

La familia de SLRP contiene 13 miembros conocidos divididos en tres subfamilias con base en su organización genómica, secuencia de aminoácidos, similaridad y estructura^{5,36}. La subdivisión de las diferentes clases de proteínas basadas en sus secuencias, no refleja la función de las moléculas. Una propiedad funcional importante común entre las clases I y II, es la capacidad para unirse al colágeno a través de los dominios ricos en repeticiones de leucina²². Varias de estas moléculas tienen un papel en la modulación del ensamblado de las fibras de colágeno como es indicado por experimentos *in vitro*, así como por estudios de inactivación del gen. Invariablemente, estos estudios muestran alteración de las dimensiones de las fibras de colágeno cuando cambia la concentración de proteoglicanos³⁶.

5.2.5 Asporina

También llamada proteína 1 asociada al ligamento periodontal, es miembro de la familia de pequeños proteoglicanos ricos en leucina perteneciendo a la clase I que se caracterizan por contener 10 repeticiones de leucina en la región central con el patrón L-X-X-L-X-L/I-X-X-N-X-L/I, cuatro residuos de cisteína en la región N-terminal y dos en la C-terminal³⁷. En contraste con la decorina y el biglicano también miembros de la Clase I, asporina no es un proteoglicano propiamente dicho, porque no contiene la secuencia de dipéptidos serina/glicina requerida para el ensamblaje de los glicosaminoglicanos; a pesar de esta diferencia, su secuencia de aminoácidos es idéntica en un 50% (y 70% similar) con las proteínas decorina y biglicano. El nombre asporina refleja su característica estructural principal que consiste en una región N-terminal rica en ácido aspártico, la cual es polimórfica y en su primera identificación mostró variación entre 11 y 15 repeticiones³⁷.

El gen ASPN humano que codifica para la proteína asporina se expande 26 Kilobases en el cromosoma 9q.1-32, contiene 8 exones y los intrones están insertos en la secuencia codificante en las posiciones correspondientes en decorina y biglicano³⁷. En cuanto a la descripción estructural de este gen se ha descrito que está conformado por un ADNc de 2357 nucleótidos, una región no traducida 5'UTR de 305pb y una 3'UTR de 930pb, un marco abierto de lectura de 1122pb, su péptido señal es de 15 aminoácidos y la proteína está constituida por 373 aminoácidos³⁸. En la figura 2 se muestra la posición de los polimorfismos registrados en la secuencia del gen ASPN de los cuales tan sólo el polimorfismo de repetición D ubicado en el exón 2 mostró asociación con OA⁴.

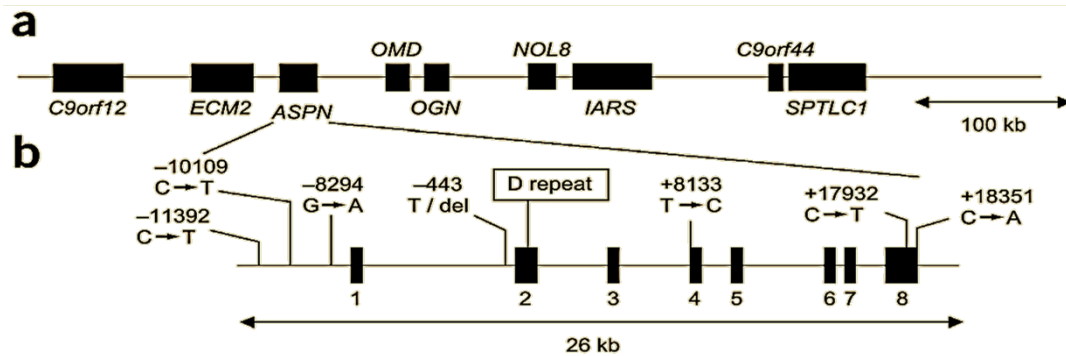


Figura 2 Estructura genómica de la región ASPN.
(a) organización genómica de ECM2, ASPN, OMD (Osteoadarina) y OGN (Osteoglicina), grupo de genes que codifican proteínas que contienen repeticiones ricas en Leucina ubicados en la región 9q21.3-9q22. (b) Variaciones en la secuencia de ASPN. Las cajas negras con números indican exones. Imagen tomada de Kizawa H, et al. 2005. Nature Genetics Volume 37 (2): Página 139

5.2.5.1 Asociación de Asporina con OA

Los genes de la familia SLRP han sido implicados con la etiología de OA. Ratones knockout de fibromodulina y doble knockout para fibromodulina y biglicano desarrollaron de manera prematura artrosis leve y severa respectivamente. La función biológica de asporina aún no es clara, sin embargo, estudios genéticos recientes han demostrado su asociación con enfermedades óseas y de las articulaciones que incluyen la osteoartritis, la artritis reumatoide y la enfermedad del disco lumbar³⁸.

Asporina se expresa normalmente en tejidos como: aorta, útero, intestino delgado, corazón, hígado, vejiga, estómago, tiroides y glándulas mamarias³⁷; se ha descrito que en cartílago articular los niveles de expresión aumentan si se trata de cartílago artrósico^{4, 36, 38}. Estas observaciones llevaron a proponer al gen ASPN como gen candidato para OA³⁹.

Kizawa y colaboradores fueron los primeros en reportar una asociación significativa entre el polimorfismo de repetición del ácido aspártico (D) y la artrosis. Ellos encontraron que el alelo D14 era sobre-expresado en individuos japoneses con artrosis de rodilla en comparación con el alelo D13 que era el más común; adicionalmente encontraron que la frecuencia del alelo D14 aumentaba con la severidad de la enfermedad⁴. El primer meta-análisis para ASPN lo realizó Valdes et al 2007 combinando los datos de las poblaciones japonesas y caucásicas (que habían mostrado discrepancias para el alelo D14) mostrando una asociación significativa para el alelo D14, a pesar de que el análisis para los caucásicos por sí solo no mostró evidencia de asociación. Los datos combinados de 3 poblaciones caucásicas independientes (Grecia, España y el Reino Unido) indican que el alelo D13, en efecto está asociado con un menor riesgo de OA de rodilla. Si bien ninguno de los estudios en caucásicos proporciono pruebas de una asociación entre el alelo D14 y OA, los datos combinados confirmarían susceptibilidad en ambas poblaciones⁴⁰.

Estudio [Ref.]	País	Etnicidad	Número		Tipo de OA	Hallazgos de asociación
			OA	Controles		
Arelano [42]	México	Latinoamericano	218	222	Rodilla	D13, D14, D15 (NS)
Atif [43]	EEUU	Europeo	775	511	Rodilla /Mano	D13, D14, D15 (NS)
Song [44]	Corea	Asiático	190	376	Rodilla	D13, D14, D15 (NS)
Jiang [45]	China	Asiático	218	454	Rodilla	D13, D14 (p=0.0013), D15 (NS)
Kaliakatsos [46]	Grecia	Europeo	155	190	Rodilla	D13 (p<0.05), D14 (NS), D15 (p=0.0018)
Rodriguez [47]	España	Europeo	491	294	Rodilla/Cadera	D13, D14, D15 (NS)
Mustafa [48]	RU	Europeo	1247	748	Rodilla/Cadera	D13, D14, D15 (NS)
Kizawa- 1 [4]	Japón	Asiático	137	234	Rodilla	D13 (NS), D14 (p=0.0013), D15 (NS)
Kizawa -2 [4]	Japón	Asiático	986	374	Rodilla	D13, D14 (p=0.0018), D15 (NS)
Kizawa -2 [4]	Japón	Asiático	986	374	Cadera	D13, D14, D15 (NS)

Tabla 3. Características de los estudios individuales incluidos en el meta-análisis. Tabla tomada de Song et al. 2014. Ref. Referencia, EEUU Estados Unidos de América, RU Reino unido, NS No significativo.

En el 2014 Song y colaboradores ⁴¹ desarrollaron un meta-análisis para evaluar la asociación de los diferentes polimorfismos de repetición D de asporina que habían mostrado discrepancias con la susceptibilidad a OA, puesto que en los estudios que habían evaluado dicha relación mostraban resultados muy heterogéneos con relación a los alelos de susceptibilidad. En la tabla 3 se describen las características de los estudios individuales incluidos en el meta-análisis.

Los resultados del meta-análisis mostraron que no existe asociación entre OA y el alelo D14 de asporina en todas las poblaciones (OR 1.161, 95 % IC 0.934–1.444, p = 0.178); como tampoco al agrupar las poblaciones europeas y asiáticas (OR 1.035, 95 % CI 0.914–1.173, p = 0.589; OR 1.537, 95 % CI 0.899–2.626, p = 0.116), respectivamente. Como innovación los autores evaluaron variaciones y heterogeneidades intra e inter-estudio, demostrando que la población asiática presenta una alta heterogeneidad ($I_2 = 81.2$, p = 0.001). Los autores concluyen que los alelos D14, D13 y D15 no están asociados con OA de rodilla o de cadera en poblaciones europeas y asiáticas.

5.2.5.2 Asporina y TGF- β

La importancia del estudio de Kizawa radica en que se demostró que asporina suprime la expresión de los genes marcadores de condrogénesis: agrecano (AGC1) y colágeno tipo II (COL2A1) mediada por el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), y reduce la acumulación de proteoglicanos en un modelo *in vitro* de condrogénesis. El efecto de asporina con TGF- β se da por una interacción directa, es alelo específica y dosis dependiente puesto que el alelo D14 genera una mayor inhibición ⁴.

Asporina co-localiza con TGF- β 1 en la superficie celular, se une a TGF- β 1, y bloquea su unión al receptor TGF- β tipo II. Consecuentemente, la fosforilación de las proteínas Smad, principalmente Smad3 es inhibida y la expresión de los genes corriente abajo de la señal TGF- β - Smad, incluyendo el colágeno tipo II y el agrecano disminuye ^{4, 49}. Nakajima y colaboradores ³⁸ emplearon ARN de interferencia para silenciar los niveles endógenos de asporina en condrocitos articulares humanos normales lo que generó un incremento en los niveles de expresión de los marcadores genéticos agrecano y colágeno tipo II, de esta manera se verificó que la asporina regula negativamente la expresión de

genes de la matriz en el cartílago articular bajo condiciones fisiológicas. La aspirina regula la señalización de TGF- β 1 al prevenir la interacción con su receptor en la superficie celular de manera dosis dependiente ³⁸. Cabe anotar que al inhibir la unión de TGF- β 1 a su receptor tipo II, aspirina forma un bucle de retroalimentación funcional con TGF- β 1 y regula su potencial condrogénico ⁵⁰.

5.2.5.3 Papel de Aspirina en el metabolismo de cartílago articular

En ensayos de transfección *in vitro* se examinó el efecto inhibitorio de los diferentes alelos de aspirina mostrando que la variante D14 tiene el efecto inhibitorio más fuerte sobre la señalización mediada por TGF- β . Se sospecha que los individuos que presentan el alelo de susceptibilidad disminuyen su potencial en la recuperación del cartílago y por lo tanto la susceptibilidad a OA. Sí aspirina actúa como un modulador de TGF- β en la respuesta de regeneración del cartílago, las alteraciones en este mecanismo de control podrían desencadenar en una aceleración del progreso de la osteoartritis ³⁶⁻³⁹. De esta manera se propone que aspirina juega un papel fundamental en la función de TGF- β en el cartílago articular y las alteraciones en este sistema podrían llevar a la degeneración del cartílago ³⁹.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Tipo de estudio

Para el análisis de polimorfismos de repetición de ácido aspártico del gen ASPN se realizó un estudio de asociación empleando casos y controles, que permitirá evaluar la hipótesis propuesta explícitamente.

6.2 Tamaño de la muestra

Se incluyeron 92 pacientes y 95 controles manejando el modelo 1:1 asegurando un control por caso.

6.3 Población

Los casos se definieron como personas mayores de 55 años con diagnóstico clínico y radiográfico de OA de rodilla, mano o cadera; valorados en la consulta externa del servicio de Reumatología y medicina interna de la Universidad Nacional de Colombia en el Hospital San Carlos (III nivel de atención) en la ciudad de Bogotá – Colombia. Los grados de clasificación de severidad K/L fueron asignados por tres especialistas diferentes con el objeto de disminuir sesgos de subjetividad.

Como controles se emplearon personas mayores de 55 años que no presentaran sintomatología de OA de rodilla, mano o cadera; ni hallazgos al examen físico sugestivos de OA de rodilla, mano o cadera; ni cambios en la radiografía antero posterior de rodilla, mano o cadera.

6.3.1 Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 55 años con evidencia clínica y radiológica de osteoartritis primaria de rodilla, mano o cadera y que cumplan criterios diagnósticos del Colegio Americano de Reumatología para OA.
- Con clasificación para grado de severidad K/L ≥ 2 .
- Intención de participar en el estudio previa autorización mediante firma del consentimiento informado (Anexo 1).

6.3.2 Criterios de exclusión

- Pacientes con osteoartritis secundaria.
- Inicio de los síntomas diagnósticos antes de los 40 años.
- Antecedente de cirugía en articulación a evaluarse.
- Antecedente de trauma o lesión del ligamento cruzado anterior, fracturas de menisco.
- Pacientes con Artritis Reumatoide, Lupus Eritematoso Sistémico, Artritis reactiva, espondiloartropatías seronegativas, artropatía por depósito de cristales (urato monosódico, hidroxapatita, pirofosfato)

6.4 Toma de muestra

Una vez se validada la condición de los pacientes, se brindó una explicación del estudio, para confirmar su interés de participar mediante la firma del consentimiento informado

correspondiente. Contando con la aprobación del paciente, se procedió a la toma de una muestra de sangre periférica por punción venocapilar en tubos vacutainer tapa lila (para hematología, con anticoagulante EDTA) y tapa amarilla (para serología, sin anticoagulante); Adicionalmente se recogió información pertinente por medio de una encuesta diseñada específicamente para el estudio (Anexo 2). Las radiografías de rodilla, mano y/o cadera se valoraron por dos reumatólogos con experiencia en Radiología, mediante la escala de Kellgren-Lawrence ¹³.

Las muestras y documentación recolectadas, fueron almacenadas en el Laboratorio de Procesos Generales de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional para la realización de fase de laboratorio correspondiente.

6.5 Procesamiento en laboratorio

6.5.1 Aislamiento ADN

El primer paso de procesamiento en el laboratorio tuvo como objeto purificar el ADN de estudio, para ello se realizó el aislamiento de leucocitos mediante la metodología de separación por gradientes de densidad empleando el reactivo Ficoll Histopaque® (Sigma-Aldrich), como resultado de este proceso se obtuvo una columna con diferentes componentes celulares como se describe en la figura 3. Los linfocitos fueron transferidos y almacenados a -80°C para los análisis posteriores.

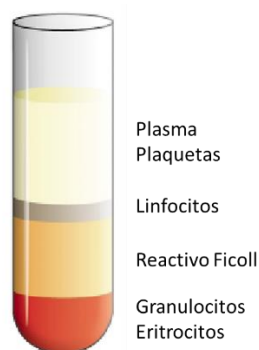


Figura 3 Aislamiento de leucocitos empleando gradiente de densidad. Ficoll- Histopaque® (Sigma-Aldrich)

6.5.2 Extracción ADN

El proceso de extracción de ADN se realizó empleando el kit PureLink™ Genomic DNA, (Invitrogen), según las especificaciones del fabricante. Empleando el equipo Nanodrop 2000, Thermo se confirmó la cantidad de ADN y pureza (relación 260/280 nm) de cada muestra requeridas para continuar con el proceso de amplificación.

6.5.3 Amplificación de la región del polimorfismo por PCR

Se diseñaron primers que encerraran la región polimórfica de ácido aspártico, empleando la secuencia de referencia: NCBI Reference Sequence: NG_023430.1 *Homo sapiens asporin* (ASPN) y el software Primer3 v.0.4.0 ⁵¹.

Para la reacción de amplificación se empleó el reactivo PCR SuperMix (Invitrogen) según las recomendaciones del fabricante junto con los primers Forward 5'-HEXATGGCTTTGTGCTCTGCCAAACC-3' y Reverse 5'-TCTGAGCAATGTACAACCTCGTG-3' a una concentración de 200nM (Figura 4). Los tiempos y las temperaturas que se utilizaron son; 94°C por 2 minutos, 40 ciclos a 94°C durante 30 segundos, 60°C por 30 segundos y 72°C por un minuto, y finalmente a 72 °C durante 5 minutos.

ATGTGCTCCTATTATTCCTGGCTTTGTGCTCTGCCAAACCCTTCTTTAGCCCTTCACACATCGC
ACTGAAGAATATGATGCTGAAGGATATGGAAGAGACACAGATGATGATGATGATGATGATGAT
GATGATGATGATGATGAGGACAACCTCTTTTTTCCAACAAGAGAGCCAAGAAGCCATTTTTTTC
CATTTGATCTGTTTCCAATGTGTCCATTTGGATGTCAGTGCTATT**CACGAGTTGTACATTGCTC**
AGATTTAGGTAAGAATATAAGTTCGATTTTGTTTTGAA

Figura 4 Fragmento de la secuencias del gen ASPN que contiene el polimorfismo de repetición de ácido aspártico (GAT), subrayados se señalan los primers empleados para el proceso de amplificación por PCR

6.5.4 Análisis de fragmentos

Los fragmentos amplificados fueron analizados por electroforesis capilar en un analizador genético ABI 3130 XL y los datos obtenidos se editaron con el programa GeneMapper. De acuerdo al tamaño de los fragmentos que mostraron variaciones en tres pares de bases se realizó la asignación alélica de los polimorfismos, teniendo como referente que el fragmento de 240 pb que se describe en la secuencia de referencia correspondió al alelo D13.

6.5.5 Análisis estadísticos

Se realizó estadística descriptiva para las variables edad, IMC, tipo de artrosis y grado de clasificación K/L. Se empleó el indicador epidemiológico razón de momios (OR) para evaluar la asociación entre las variables categóricas, frecuencias alélicas, frecuencias genotípicas y grados de severidad al comparar entre casos y controles con un intervalo de confianza del 95%. La comparación entre los grupos se realizó mediante la prueba Chi-cuadrada (χ^2) empleando un α de 0.05.

Los análisis de las variables descriptivas, estadístico OR y prueba Chi-cuadrada fueron realizados con el programa Stata 12.0⁵² mientras que la evaluación del equilibrio Hardy-Weinberg, y el parámetro D' del desequilibrio de ligamiento fueron realizados con el programa Genepop⁵³.

7. RESULTADOS

En total se analizaron 92 casos y 95 controles. En la tabla 4 se resumen las variables cuantitativas cantidad, edad, e índice de masa corporal para casos y controles. Se puede evidenciar que el 67.4 % de los casos corresponde a mujeres en contraste con el 40% de mujeres en el grupo de controles. Con relación al índice de masa corporal se observa que todos los pacientes presentan valores similares que corresponden a valores normales, aunque el valor promedio para las mujeres con OA se encuentra en el límite superior de esta clasificación.

	Casos		Controles	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
Cantidad	30	62	56	38
Edad	73.6 ± 10.3	69.9 ± 7.1	72.3 ± 8.3	73.5 ± 7.6
IMC	24.2 ± 3.3	25.2 ± 4.9	23.8 ± 3.0	22.8 ± 3.5

Tabla 4. Descripción de los pacientes participantes del estudio de casos y controles

Al comparar la cantidad de pacientes que presentaban antecedentes de artrosis en su historia familiar 51.1 % de los casos reportaba antecedentes en su familia frente a un 17.8 % en los controles.

En la tabla 5 se describe el grupo de casos discriminando por género, tipo de artrosis y grado de clasificación K/L. El tipo más frecuente de artrosis corresponde al de rodilla presentándose en el 83.7% de los casos, seguido de OA de mano en el 76.1% y OA de cadera en el 35.9% de los casos. Nueve casos presentaron los tres tipos de artrosis analizados, mientras que la presencia de OA de mano y rodilla fue la más frecuente presentándose en 37 (40%) de los casos. Adicionalmente, también es posible observar que el grado de clasificación K/L 3 es el más frecuente en ambos géneros (70.5% en hombres y 56.3 % en mujeres).

	Hombres			Mujeres				
	Total	K/L 2	K/L 3	K/L 4	Total	K/L 2	K/L 3	K/L 4
OA rodilla	25	1	13	6	52	4	22	15
OA mano	22	1	14	3	48	4	28	9
OA cadera	10	1	4	1	23	1	9	5

Tabla 5. Tipo de artrosis y grado de clasificación K/L por género

Se realizó la prueba estadística Fis para evaluar si la población se encuentra en Equilibrio de Hardy Weinberg (EHW), esto permite verificar si la población está bajo el efecto de alguna fuerza evolutiva que altere el equilibrio genético evaluando las frecuencias de los alelos observados (casos y controles por separado) y los esperados bajo equilibrio genético. Al realizar la prueba estadística que compara los valores observados con los esperados se puede evidenciar qué tan cerca del equilibrio (valores cercanos a 0) o qué

tan desviado del equilibrio están las poblaciones (valores cercanos a 1 cuando hay exceso de homocigotos y valores cercanos a -1 cuando hay exceso de heterocigotos).

Para los casos se obtuvo un valor Fis de 0.0785 y para los controles un Fis de 0.0141, puesto que los valores obtenidos se encuentran cercanos a 0, es posible determinar que los casos como los controles se encuentran bajo equilibrio de Hardy-Weinberg por lo que ninguna fuerza evolutiva está influenciando de manera preponderante en los casos o controles.

En la tabla 6 se describe la distribución de las frecuencias alélicas observadas para casos y controles. Dentro de esta muestra se identificaron diez alelos para el polimorfismo D de asporina. En los dos grupos de pacientes el alelo más frecuente fue el alelo D12 con una frecuencia del 42% para los casos y 51% en los controles; mientras que el alelo D18 y D17 fueron los menos frecuentes en casos y controles respectivamente.

ALELO	OA		Controles	
	2n = 184	%	2n = 190	%
D8	2	1	-	-
D10	2	1	-	-
D11	7	4	11	6
D12	78	42	96	51
D13	50	27	44	23
D14	29	16	26	14
D15	10	5	8	4
D16	1	1	4	2
D17	4	2	1	1
D18	1	1	-	-

Tabla 6. Frecuencias alélicas para el polimorfismo de repetición D en asporina, discriminado entre casos y controles.

Al observar que las distribuciones alélicas en casos y controles fueron similares, se realizó una comparación valorando el posible riesgo de portar alguno de los alelos descritos. En la tabla 7 se listan los valores de OR, los intervalos de confianza respectivos y los p valores sin que alguno resultara significativo. Se observa que en ninguna de las comparaciones existe relación de susceptibilidad o protección frente a la presencia de alguno de los alelos D de asporina.

Alelo	OR	IC (95%)	p valor
11	0.6	0.21 - 1.86	0.3699
12	0.72	0.47 - 1.10	0.1148
13	1.24	0.75 - 2.03	0.3707
14	1.18	0.64 - 2.18	0.5798
15	1.31	0.45 - 3.90	0.5803
16	0.25	0.005 - 2.61	0.1886
17	4.27	0.41 - 207.88	0.1654

Tabla 7 Asociación de la repetición D de asporina en pacientes con OA de mano, rodilla o cadera.

Los alelos D12, D13 y D14 fueron los alelos más frecuentes tanto en casos como en controles. Es de esperar que los genotipos que contienen uno o dos de estos alelos representen la mayor parte de los pacientes analizados. La distribución de las frecuencias genotípicas se muestra en las tablas 8A y 8B para casos y controles respectivamente. En los casos los genotipos más frecuentes fueron: D12-D13 (23.9%), D12-D14 (20,6%) y D12-D12 (14.1%), mientras que en los controles el orden de frecuencia se observó al genotipo D12-D12 (23,9%), D12-D13 (20,6%) y D12-D14 (14.1%).

		Casos									
A		8	10	11	12	13	14	15	16	17	18
10		0	1								
11		0	0	0							
12		0	0	2	13						
13		0	0	3	22	8					
14		2	0	1	19	5	0				
15		0	0	1	6	2	1	0			
16		0	0	0	0	0	1	0	0		
17		0	0	0	2	2	0	0	0	0	
18		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

		Controles					
B		11	12	13	14	15	16
11		1					
12		6	25				
13		2	21	6			
14		1	14	6	1		
15		0	2	3	2	0	
16		0	2	0	1	1	0
17		0	1	0	0	0	0

Tabla 8 Distribución de los genotipos del polimorfismo de repetición D en pacientes con OA de mano, rodilla o cadera (A) y en controles (B)

Con relación a los genotipos más frecuentes se evaluó la posible asociación como factor de riesgo o protección para OA. En la tabla 9 se muestra la frecuencia y valoración OR para los genotipos D21 – D12, D12 – D13 y D12 – D14. El genotipo D12 – D12 mostró diferencias significativas con un OR de 0.46 (IC 0.20-1.02 p – valor: 0.0384) exponiendo una asociación de protección para OA. Los otros dos genotipos evaluados no mostraron una valoración de riesgo significativa.

Genotipos	Casos		Controles		OR	(IC 95 %)	p valor
	n = 92	%	n = 95	%			
12 - 12	13	14,1	25	23,9	0.46	(0.20 - 1.02)	0.0384
12 - 13	22	23,9	21	20,6	1.11	(0.53 – 2.32)	0.7690
12 - 14	19	20,6	14	14,1	1.51	(0.66 – 3.49)	0.2888

Tabla 9 Asociación de los genotipos más frecuentes para la repetición D de asporina en pacientes con OA de mano, rodilla o cadera.

Adicionalmente, se evaluó la asociación de los tres genotipos más frecuentes para OA general o discriminados por tipo de OA comparando el número de individuos que fueron clasificados con el grado de severidad radiológica K/L = 4. En la tabla 10 se muestran los valores de OR discriminados por genotipo y tipo de OA. La comparación del genotipo D12 – D12 en pacientes con OA de mano fue la única comparación que mostró diferencias significativas OR 0.19 (IC 0.02 – 0.93 p-valor: 0.0198).

	Genotipo					
	12 – 12		12 - 13		12 - 14	
	OR	P valor	OR	P valor	OR	P valor
OA General	0.46 (0.20 – 1.02)	0.0384	1.11 (0.53 – 2.32)	0.7690	1.51 (0.66 – 3.49)	0.2888
OA Mano	0.19 (0.02 – 0.93)	0.0198	0.37(0.06 – 1.59)	0.1338	0.68 (0.06 – 6.11)	0.6767
OA Rodilla	0.5 (0.08 – 2.44)	0.3292	0.39 (0.08 – 1.41)	0.1085	0.76 (0.21 – 2.61)	0.6217
OA Cadera	---	---	0.14 (0.00 – 1.12)	0.0338	1.57 (0.17 – 19.13)	0.6243

Tabla 10 Asociación entre los genotipos más frecuentes para la repetición D de asporina en pacientes con OA de mano, rodilla o cadera y el grado de clasificación K/L 4.

8. Discusión

La OA es una enfermedad compleja y multifactorial en donde factores genéticos y no genéticos influyen su desarrollo. Identificar genes que se relacionan con la susceptibilidad a esta enfermedad constituye uno de los principales frentes para el manejo de esta enfermedad. La aplicación de nuevas fuentes de conocimiento sobre el progreso de la OA ofrece prometedoras perspectivas de cara al desarrollo de nuevos tratamientos ⁷.

Los estudios en personas con síntomas articulares pueden resultar más significativos desde el punto de vista clínico, ya que no todas las personas con artrosis radiográfica presentan enfermedad clínica, y no todas las afectadas de dolor articular tienen signos radiográficos de OA. Cada conjunto de criterios clínicos y radiográficos pueden dar lugar a grupos ligeramente diferentes de sujetos en los que se define una OA ⁷.

Con el objeto de disminuir los sesgos que se pueden generar al emplear criterios de clasificación heterogéneos en los estudios de casos y controles para los pacientes con OA, en este estudio se incluyeron tres pasos importantes para la selección de los pacientes. La inclusión de los pacientes estuvo sujeta a una valoración clínica y radiológica asegurando que los casos con OA presentaran un grado de severidad K/L ≥ 2 . Adicionalmente, a cada paciente se le tomó una encuesta en la cual se consignó información de variables importantes en este tipo de estudios que no puede ser extraída por medio de la valoración clínica o la radiografía. Un ejemplo claro de lo informativo que puede ser esta herramienta se observa al comparar el porcentaje de casos que reportaron presentar un antecedente familiar para OA es 3.2 veces mayor que los pacientes del grupo control, demostrando la influencia del componente genético en OA.

En este estudio 10 alelos de la repetición D de asporina fueron identificados, la distribución alélica difiere de las descritas en estudios de referencia realizados en poblaciones asiáticas, europeas o griega; pero se asemeja a los alelos descritos para la población mexicana en el estudio de Arrellano y colaboradores 2013 ⁴², lo que podría suponer una similitud genética entre poblaciones latinoamericanas; sin embargo, en el estudio de Gálvez que también fue realizado con población mexicana el alelo más frecuente tanto para casos como para controles fue el D14 lo que pone de manifiesto la heterogeneidad en los estudios del polimorfismo D de asporina. Como nuevo reporte se encontró el alelo D8 el cual no había sido descrito en estudios previos.

Con relación a las asociaciones entre las variantes alélicas D de asporina y la susceptibilidad de riesgo o de protección a OA, la asociación de riesgo inicial reportada por Kizawa 2004 para el alelo D14 con OA de rodilla en poblaciones asiáticas (OR: 2.49 p – valor: 0.0013), fue replicada para la población Han en el estudio de casos y controles de Jiang 2006 (OR: 1.66 p – valor: 0.018), pero difiere de las asociaciones encontradas para la población caucásica en donde el alelo D14 mostró una asociación marginal en hombres y OA de cadera ⁴⁸. En contraste con los hallazgos de susceptibilidad en las poblaciones

asiáticas, en el estudio de casos y controles realizado con pacientes griegos que habían sufrido remplazo de cadera se describió que el alelo D13 disminuía el riesgo a OA de rodilla (OR: 0.62 p – valor: 0.002) pero el alelo D14 no aumenta el riesgo (OR: 1.1 p – valor: 0.65); sin embargo, en este mismo estudio se reportó asociación con el alelo D15 (OR: 1.54 p – valor: 0.4) ⁴⁶. Finalmente Arrellano reportó para población mexicana una asociación diferente a las anteriormente descritas en donde los alelos D16 en mujeres y D17 en hombres muestran un riesgo hacia OA de rodilla y el alelo D12 como factor protector ⁴².

Debido a la amplia heterogeneidad en los estudios de asociación de asporina con OA, Nakamura ⁵⁴, Xing ⁵⁵, Song ⁴¹ y colaboradores realizaron meta-análisis recopilando los diferentes estudios de asociación concluyendo que la repetición D de asporina está globalmente asociada con OA de rodilla, pero su efecto tiene diferencias étnicas: fuerte en asiáticos y débil en europeos. La heterogeneidad de los efectos genéticos entre asiáticos y europeos corrobora la existencia de una interacción gen-gen o gen-medio ambiente ⁵⁴.

Los resultados obtenidos en la población colombiana difieren de los hallazgos descritos en estudios precedentes. Al realizar la evaluación de riesgo con cada uno de los alelos presentes en la población colombiana no se encontró susceptibilidad de riesgo a desarrollar OA con ninguno de los alelos, pero al realizar la comparación de los genotipos más frecuentes en casos AO y controles se encontró que el genotipo D12 – D12 podría tomarse como un factor protector ya que obtuvo un OR de 0.46 (p – valor: 0.038) de no ser porque el intervalo superior de confianza sobrepasa el límite para que la asociación descrita sea estadísticamente significativa. Sin embargo, al realizar la comparación de los genotipos discriminando entre los diferentes tipos de OA, se obtiene una asociación significativa entre el genotipo D12 – D12 y OA de mano (OR: 0.19 p – valor: 0.0198), probablemente al realizar la comparación agrupando los diferentes tipos de OA no es posible detectar la asociación de protección, y al separarlos desenmascara la asociación entre el genotipo homocigoto D12 y OA de mano.

Llama la atención cómo la heterogeneidad de los alelos asociados como factores de riesgo o protección difiere entre todas las poblaciones reportadas hasta la fecha. Si bien en este estudio de casos y controles para población colombiana no se encontró una asociación directa entre el polimorfismo de repetición D de asporina y la OA general o en los tres tipos de OA, gracias a los estudios previos en las diferentes poblaciones, es claro que la acción inhibitoria que ejerce asporina sobre TGF- β , media la progresión de la OA sin depender del número de repeticiones D presentes en asporina. Esta interacción se demostró en el estudio de Kuo y colaboradores ⁵⁸ en el que evaluaron péptidos parciales de la región central de asporina que contenían dominios de LRR y la región del polimorfismo D, en la búsqueda de la región que interactúa directamente con el factor de crecimiento y conlleva a la inhibición de la condrogénesis, favoreciendo la progresión de OA. En dicho estudio encontraron que el péptido parcial P33-363 que contiene la región rica en ácido aspártico no modula la interacción con TGF- β 1; mientras que el péptido P159-205 que contiene LRR4-5 es el mediador primario en la unión con TGF- β 1, en la

decorina P155-260 que incluye LRR4-8 es el que media la misma interacción, mostrando que las regiones primarias de unión a TGF- β 1 de asporina y decorina son consistentes.

Por otra parte, cuando se analizan los resultados obtenidos en el estudio de asociación de los polimorfismos de repetición D de asporina con la displasia del desarrollo de cadera ⁵⁶ y la asociación de los mismos polimorfismos con artritis reumatoide en el estudio de Torres ⁵⁷ se evidencia que la susceptibilidad de asporina no se limita a la OA. En el primer estudio el alelo D14 es reportado como un factor de riesgo a OA y el alelo D13 como protector; mientras que en el segundo no se obtuvo una asociación significativa pero sugieren que la asociación de asporina no puede descartarse por completo puesto que los pacientes con artritis reumatoide que portaban el polimorfismo D14 producían con más frecuencia el factor reumatoide y tenían un inicio más temprano de la enfermedad. Aunque la repetición podría no ser la mayor influencia en las enfermedades, es evidente que asporina ejerce un papel modulador que influencia el desarrollo de las enfermedades mencionadas.

Estudios en donde se evalúa el efecto de asporina en el desarrollo de cáncer gástrico ⁵⁹ y de seno ⁶⁰ demuestran la importancia de la interacción entre asporina y TGF – β . En el primer caso, altos niveles de asporina son expresados en fibroblastos asociados a cáncer, lo que conlleva a procesos de invasión y proliferación de las células cancerosas. En contraste, para el caso de cáncer de seno, asporina actúa como un supresor de tumor al inhibir a TGF – β .

Con el incremento de estudios en donde se evalúa la importancia de asporina en la regulación de diferentes enfermedades, es necesario resaltar que dichos estudios adicional al análisis de frecuencias de los polimorfismos, hacen falta estudios que evalúen el potencial real de la asporina, que permitan describir las funciones de regulación no sólo en la patogénesis, sino también en los diferentes procesos de señalización que conllevan a patologías muy diferentes, pero que la localiza a diferencia de los otros miembros de proteoglicanos como una molécula reguladora y clave en modulación de procesos fisiológicos vitales.

9. Conclusiones

La artrosis es una enfermedad metabólicamente muy activa en la cual la suma de muchas factores que influyen en su desarrollo y progresividad. Gran parte de su patogenia depende del componente genético por lo que el incremento de estudios en genes asociados con esta enfermedad permite aclarar los mecanismos y factores que la influyen.

El alelo de polimorfismo de repetición D de asporina más frecuente en la población colombiana analizada corresponde al alelo D12. A pesar de ser el más frecuente no se encontraron asociaciones significativas con factor de riesgo o de protección para OA general o para OA de mano, rodilla o cadera.

La distribución de los alelos D para la población colombiana difiere de las reportas para las poblaciones caucásicas, asiáticas, griegas y mexicanas; poniendo de manifiesto la heterogeneidad de los estudios en OA.

Aunque en el presente trabajo no se encontró asociación de susceptibilidad del polimorfismo D de asporina y OA, el desarrollo de estas investigaciones permite direccionar nuevas investigaciones en el estudio de OA.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Quintero M, Monfort J, Mitrovic D, Osteoartrosis: Biología, fisiopatología, clínica y tratamiento. Editorial Médica Panamericana. 2010.
2. Gutfraind Ernesto. Actualizaciones en Reumatología. Volumen 1. Pág 13-50. Disponible en: <http://www.bgb-biogen.com/reumatologia/>
3. Limer KL, Tosh K, Bujac SR, McConnell R, Doherty S, Nyberg F, et al.: Attempt to replicate published genetic associations in a large, well-defined osteoarthritis case-control population (the GOAL study). *Osteoarthritis & Cartilage* 2009, 17:782-789.
4. Kizawa H, Kou I, Iida A, Sudo A, Miyamoto Y, Fukuda A, et al. An aspartic acid repeat polymorphism in asporin inhibits chondrogenesis and increases susceptibility to osteoarthritis. *Nat Genet* 2005;37:138–44
5. Sánchez Naranjo J, López Zapata D. Fisiopatología celular de la osteoartritis: el condrocito articular como protagonista Julio César Sánchez Naranjo, Diego Fernando López Zapata. *Iatreia* Vol. 24 (2): 167-178, junio – agosto 2011
6. Pereira, D, Peleteiro B, Araujo J, et al. The effect of osteoarthritis definition on prevalence and incidence estimates: a systematic review. *Osteoarthritis and Cartilage/OARSI, Osteoarthritis Research Society International* 2011; 19: 1270–85.
7. Zhang Yuqing, Jordan Joanne. Epidemiología de la artrosis. *Rheum Dis Clin N Am* 2008; 34: 515- 529.
8. Robert D Jurmain, Lynn Kilgore. Skeletal evidence of osteoarthritis: a palaeopathological perspective. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1995; 54: 443-450
9. Dequeker J, Luyten FP. The history of osteoarthritis-osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis* 2008;Jan 67:5–10. doi:10.1136/ard.2007.079764
10. Herrero-Beaumont G, Roman-Blas JA, Castañeda S, et al. Primary osteoarthritis no longer primary: three subsets with distinct etiological, clinical, and therapeutic characteristics. *Semin Arthritis Rheum* 2009;39(2):71-80.
11. Actualización en artrosis. Actualizaciones el Médico. Miguel Bernad Pineda. Sistema Nacional de Salud. Grupo SANED 2007. Madrid
12. Kent Kwok. The epidemiology of aging. Chapter 29: Epidemiology of osteoarthritis. Pages 523- 536. Springer Science+Business Media Dordrecht. 2012.
13. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthrosis. *Ann Rheum Dis* 1957;16:494-502.
14. Woolf AD, Pfleger B. Burden of major musculoskeletal conditions. *Bull World Health Organ* 2003;81:646-56.
15. Pereira, D, Peleteiro B, Araujo J, et al. The effect of osteoarthritis definition on prevalence and incidence estimates: a systematic review. *Osteoarthritis and Cartilage/OARSI, Osteoarthritis Research Society International* 19, 1270–85 (2011).
16. Neogi T, Zhang Y. Epidemiology of osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2013 February; 39(1): 1–19. doi:10.1016/j.rdc.2012.10.004.
17. SER Sociedad española de reumatología. Artrosis Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid. 2010.
18. Organización de Naciones Unidas. Informe de la Segunda Asamblea Mundial de Envejecimiento. Madrid, 8 a 12 de abril de 2002
19. Braga L, Renner JB, Schwartz TA, et al. Differences in radiographic features of knee osteoarthritis in African-Americans and Caucasians: the Johnston county osteoarthritis project. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17:1554–61.

20. Nelson AE, Braga L, Renner JB, et al. Characterization of individual radiographic features of hip osteoarthritis in African American and White women and men: the Johnston County Osteoarthritis Project. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010; 62:190–7.
21. Allen KD, Golightly YM. Epidemiology of osteoarthritis: state of the evidence. *Current Opinion in Rheumatology*. 27(3):276-283, May 2015.
22. Gálvez Arturo. Estudio de los polimorfismos de un repetido de ácido aspártico en el gen de la asporina y su asociación con osteoartritis de rodilla. Tesis de Doctorado. Instituto Politécnico Nacional. México D.F. 2010.
23. Peña A, Fernández-López J. Prevalencia y factores de riesgo de la osteoartritis. *Reumatol Clin*. 2007;3 Supl 3:S6-12.
24. Fernández-Moreno M, Rego I, Blanco F. Genética en la osteoartritis. *Reumatología Clínica* 2007;3 Supl 3:S13-18.
25. Toro CE, Restrepo J, Iglesias A, Rondón F. Fisiopatología del cartílago y bases para futuras terapias en osteoartritis temprana. *Revista Colombiana de Reumatología*. Vol. 14 No. 2, Junio 2007, pp. 135-142.
26. Valdes, AM, Spector, TD. The contribution of genes to osteoarthritis. *Rheumatic diseases clinics of North America* 2008; 34,581–603.
27. Spector TD, MacGregor AJ. Risk factors for osteoarthritis: genetics. *Osteoarthritis and Cartilage/OARSI, Osteoarthritis Research Society International* 2004; 12 Suppl A, S39–44.
28. Gonzalez Antonio. Osteoarthritis year 2013 in review: genetics and genomics. *Osteoarthritis and Cartilage* 2013; 21: 1443e1451
29. Kraus VB, Jordan JM, Doherty M, Wilson AG, Moskowitz R, Hochberg M, Loeser R, Hooper M, Renner JB, Crane MM, Hastie P, Sundseth S, Atif U. The Genetics of Generalized Osteoarthritis (GOGO) study: study design and evaluation of osteoarthritis phenotypes. *Osteoarthritis and Cartilage* 2007; vol. 15 issue 2 February, p. 120-127
30. Limer KL, Tosh K, Bujac SR, McConnell R, Doherty S, Nyberg F, et al.: Attempt to replicate published genetic associations in a large, well-defined osteoarthritis case-control population (the GOAL study). *Osteoarthritis & Cartilage* 2009, 17:782-789.
31. Lorenz H, Richter W. Osteoarthritis: Cellular and molecular changes in degenerating cartilage. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 2006; 40: 135–163.
32. Velasquillo C, Garcia D, Ibarra C. Diferenciación del cartílago articular y osteoartritis.. *Reumatol Clin*. 2007; 3 Supl 3:S2-5.
33. Blaney Davidson E, van der Kraan P, van den Berg W. TGF-b and osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2007;15:597e604.
34. Janssens K, Dijke P, Janssens S, Van Hul W. Transforming Growth Factor-b1 to the Bone. *Endocrine Reviews*, October 2005, 26(6):743–774
35. Sosa Garrocho Marcela, Macías-Silva Marina. 2004. El factor de crecimiento transformante beta (TGF-β): Funciones y vías de transducción. *Revista de Educación Bioquímica - REB* 23(1): 3-11.
36. Henry SP, Takanosu M, Boyd TC, Mayne PM, Eberspaecher H, Zhou W, de Crombrughe B, Hook M, Mayne R. Expression pattern and gene characterization of asporin. A newly discovery member of the leucine-rich repeat protein family. *J. Biol. Chem*. 2001; 276, 12212–12221

37. Lorenzo P, Aspberg A, Onnerfjord P, Bayliss MT, Neame PJ, Heinegard D. Identification and characterization of asporin. a novel member of the leucine-rich repeat protein family closely related to decorin and biglycan. *J. Biol. Chem.* 2001; 276, 12201–12211.
38. Nakajima M, Kizawa H, Saitoh M, Kou I, Miyazono K, Ikegawa S. Mechanisms for Asporin Function and Regulation in Articular Cartilage. *The Journal of Biological Chemistry* 2007; vol. 282, no. 44, pp. 32185–32192.
39. Moustakas A, Miyazawa K. TGF-beta in human disease. Tokyo: Springer. 2013. Pág 381-383
40. Valdes AM, Loughlin J, Oene MV, Chapman K, Surdulescu GL, Doherty M et al. Sex and ethnic differences in the association of ASPN, CALM1, COL2A1, COMP, and FRZB with genetic susceptibility to osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 2007; 56(1):137–146
41. Song G, Kim J, Lee Y. A meta-analysis of the relationship between aspartic acid (D)-repeat polymorphisms in asporin and osteoarthritis susceptibility. *Rheumatology international* 2014; 34: 785- 792.
42. Arellano R, Hernández F, García-Sepúlveda C, Velasco V, Loera C, Arguello J. The D-repeat polymorphism in the ASPN gene and primary knee osteoarthritis in a Mexican mestizo population: a case–control study. *J Orthop Sci* 2013;18:826–31.
43. Atif U, Philip A, Aponte J, Woldu EM, Brady S, Kraus VB et al. Absence of association of asporin polymorphisms and osteoarthritis susceptibility in US Caucasians. *Osteoarthr Cartil* 2008;16(10):1174–1177.
44. Song JH, Lee HS, Kim CJ, Cho YG, Park YG, Nam SW et al. Aspartic acid repeat polymorphism of the asporin gene with susceptibility to osteoarthritis of the knee in a Korean population. *Knee* 2008;15(3):191–195
45. Jiang Q, Shi D, Yi L, Ikegawa S, Wang Y, Nakamura T et al. Replication of the association of the aspartic acid repeat polymorphism in the asporin gene with knee-osteoarthritis susceptibility in Han Chinese. *J Hum Genet* 2006; 51(12):1068–1072.
46. Kaliakatsos M, Tzetis M, Kanavakis E, Fytili P, Chouliaras G, Karachalios T et al. Asporin and knee osteoarthritis in patients of Greek origin. *Osteoarthr Cartil* 2006;14(6):609–611.
47. Rodriguez-Lopez J, Pombo-Suarez M, Liz M, Gomez-Reino JJ, Gonzalez A. Lack of association of a variable number of aspartic acid residues in the asporin gene with osteoarthritis susceptibility: case-control studies in Spanish Caucasians. *Arthritis Res Ther* 2006;8(3):R55.
48. Mustafa Z, Dowling B, Chapman K, Sinsheimer JS, Carr A, Loughlin J. Investigating the aspartic acid (D) repeat of asporin as a risk factor for osteoarthritis in a UK Caucasian population. *Arthritis Rheum* 2005;52(11):3502–3506.
49. Kou I, Nakajima M, Ikegawa S. Expression and regulation of the osteoarthritis-associated protein asporin. *J. Biol. Chem.* 2007;282:32193–9.
50. Shiro Ikegawa. Expression, Regulation and Function of Asporin, A Susceptibility Gene in Common Bone and Joint Diseases. *Current Medicinal Chemistry* 2008;15, 724-728
51. Rozen S, Skaletsky, H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Mol Biol*, 2003;132(3), 365–386
52. StataCorp. 2011. *Stata Statistical Software: Release 12*. College Station, TX: StataCorp LP.
53. Rousset F. Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resources* 2008;8: 103-106.

54. Nakamura T, Shi D, Tzetis M, Rodriguez LJ, Miyamoto Y, Tsezou A, et al. Metaanalysis of association between the ASPN D-repeat and osteoarthritis. *Hum Mol Genet* 2007; 16(14):1676-1681.
55. Xing D, May X, Maz J, Xu W, Wang J, Yang Y, et al. Association between aspartic acid repeat polymorphism of the asporin gene and susceptibility to knee osteoarthritis: a genetic meta-analysis. *Osteoarthritis Cartilage* 2013;21: 1700-6
56. Shi D, Dai J, Zhu P, Qin J, Zhu L, Zhu H, Zhao B, Qiu X, Xu Z, Chen D, Yi L, Ikegawa S, Jiang Q. Association of the D repeat polymorphism in the ASPN gene with developmental dysplasia of the hip: a case-control study in Han Chinese. *Arthritis Research & Therapy* 2011, 13:R27
57. Torres B, Orozco G, García-Lozano JR, Oliver J, Fernández O, González-Gay MA, Balsa A, García A, Pascual-Salcedo D, López-Nevot M, Núñez-Roldán A, Martín J, González-Escribano M. Asporin repeat polymorphism in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007;66:118–120. doi: 10.1136/ard.2006.055426.
58. Kuo I, Nakajima M, Ikegawa S. 2010. Binding characteristics of the osteoarthritis-associated protein asporin. *J Bone Miner Metab* 2010;28:395-402
59. Satoyoshi R, Kuriyama S, Aiba N, Yashiro M, Tanaka M. Asporin activates coordinated invasion of scirrhous gastric cancer and cancer-associated fibroblasts. *Oncogene* 34, 650-660 (29 January 2015) doi:10.1038/onc.2013.584
60. Maris P, Blomme A, Palacios AP, et al. Asporin Is a Fibroblast-Derived TGF- β 1 Inhibitor and a Tumor Suppressor Associated with Good Prognosis in Breast Cancer. Kemp C, ed. *PLoS Medicine*. 2015;12(9):e1001871. doi:10.1371/journal.pmed.1001871.

ANEXO 1
**ESTUDIO DE ASOCIACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS DE REPETICIÓN DE ÁCIDO ASPARTICO
DEL GEN ASPN Y LA OSTEOARTRITIS**

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Apreciado paciente:

En esta institución se adelanta un estudio para conocer si el número de repeticiones de ácido aspártico presentes en el gen de la asporina se asocia con la osteoartritis, puesto que, estudios en poblaciones asiáticas han demostrado una asociación entre estos dos factores. Por esta razón queremos solicitar su participación en el estudio. Su participación es completamente voluntaria; Ud. puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento sin que esto afecte sus controles y atención prestada por la institución. En este caso recibirá el tratamiento usual y se le harán los exámenes de laboratorio que usualmente se realizan a los pacientes con esta enfermedad. Durante el estudio podrá plantear preguntas adicionales para aclarar las dudas. Además, las muestras obtenidas en el estudio podrían ser empleadas a futuro en estudios similares aprobados por el comité de ética de la institución.

Si decide participar, deberá tomarse, además de los exámenes rutinarios que forman parte del proceso de atención a la osteoartritis, una muestra de sangre adicional, en la que se tomarán 15 mL. Las radiografías, que forman parte del diagnóstico y seguimiento de la osteoartritis, se le practicarán independientemente de que participe o no en el estudio. Las molestias que Usted puede experimentar son pocas. Algunos pacientes pueden presentar irritación, alergia, dolor o formación de hematomas en el sitio de toma de sangre.

Si Ud. acepta participar, el examen de sangre del estudio no tendrá ningún costo. Usted y su médico tratante podrán conocer sus resultados de los exámenes y tener una explicación sobre los mismos con los especialistas en reumatología que forman parte del grupo investigador. Algunos de estos exámenes son muy importantes para saber sobre su enfermedad, osteoartritis. No se ofrecerá ninguna compensación monetaria. La información recolectada se utilizará exclusivamente para los propósitos del estudio y será mantenida en forma confidencial. Los resultados se publicarán en revistas científicas como datos agrupados y no individuales. En estas publicaciones no se incluyen los nombres de los pacientes.

Al firmar este consentimiento reconoce que ha entendido las condiciones y objetivos del estudio, está satisfecho con la información brindada por el médico tratante quien lo ha hecho en un lenguaje claro y sencillo, se le dio la oportunidad de resolver las dudas y comprende el alcance, beneficios y riesgos que conlleva su participación.

Si durante este estudio tiene alguna duda sobre el tipo de investigación que se realiza o ve vulnerado sus derechos, debe comunicarse con el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, al número 3165000 Ext. 15049

El coordinador del estudio en esta institución es la (el) Dra. (Dr.): _____ con quien Ud. se puede poner en contacto en el teléfono: _____.

Nombre: _____

Firma: _____

Cédula: _____

Ciudad y fecha _____

Testigo: _____

Cedula: _____

Firma Investigador: _____

Número registro médico: _____

ANEXO 2

Encuesta



Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina-Departamento de Medicina Interna
Unidad de Reumatología



Consecutivo:		N° historial:		Fecha:	
Institución:					
Nombre:					
Motivo de la consulta:					
Género:	F <input type="checkbox"/>	M <input type="checkbox"/>	Edad:	C.C.:	Teléfono:
Dirección:				Ciudad:	
Lugar de nacimiento:					
Lugar de nacimiento madre:					
Lugar de nacimiento padre:					
Estado civil: Soltero <input type="checkbox"/> Casado <input type="checkbox"/> Divorciado: <input type="checkbox"/> Viudo: <input type="checkbox"/> Unión libre: <input type="checkbox"/>					
¿Considera usted que pertenece a alguna etnia poblacional? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>					¿Cuál?
Indígena __ Mestizo __ Afrodescendiente __					
Ocupación laboral actual:				Desde:	
Última ocupación laboral:				Duración:	
¿Practica o practicó algún deporte de alto impacto? (fútbol, taekwondo, boxeo, atletismo, salto)?					
Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>		¿Cuál?		Intensidad horaria semanal:	
¿Durante cuánto tiempo?					
Menopausia (ausencia de menstruación por 12 meses consecutivos)					Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>

Anamnesis					
Antecedentes					
Patológicos	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	¿Cuáles?		
Quirúrgicos	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	¿Cuáles?		
Alérgicos	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	¿Cuáles?		
Tabaquismo	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	N° Cigarros al día		
Farmacológicos	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	¿Cuáles?		
Acetaminofen	Naproxen	Ibuprofen	Diclofenaco	Piroxicam	Meloxicam
Glucosamina	Vitamina D	Condroitin	Tramadol	Otros:	
Familiares	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	¿Cuáles?		
Traumáticos	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	¿Cuáles?		
Accidentes previos con daño en: Rodilla <input type="checkbox"/> Cadera <input type="checkbox"/> Manos <input type="checkbox"/> Columna <input type="checkbox"/>					
Otro ¿Cuál?					

ANTROPOMETRÍA						
Altura en metros		Peso (Kg)			IMC	
MANOS						
Derecha	Izquierda	Bilateral	Fecha de Inicio de síntomas (meses)			
Rigidez Matinal		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	Duración rigidez en minutos		
Dolor articular		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>			
Dolor en IFD		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>			
Dolor en IFP		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>			
Dolor en 1a carpo metacarpiana		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>			
Nódulos de Heberden		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>			
Nódulos de Bouchard		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>			
Radiografía de mano derecha		KL 0	KL 1	KL 2	KL 3	KL 4
Radiografía de mano izquierda		KL 0	KL 1	KL 2	KL 3	KL 4
Observaciones						
RODILLAS						
Derecha	Izquierda	Bilateral	Fecha de Inicio de síntomas (meses)			
Rigidez Matinal		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	Duración rigidez en minutos		
Dolor articular al movimiento		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>			
Crepitos		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>			
Radiografía de rodilla derecha		KL 0	KL 1	KL 2	KL 3	KL 4
Inestabilidad articular rodilla derecha		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	Colateral medio	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Cruzado ant		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	cruzado post
				Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	
Radiografía de rodilla izquierda		KL 0	KL 1	KL 2	KL 3	KL 4
Inestabilidad articular rodilla izquierda		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	Colateral medio	Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
		Cruzado ant		Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	cruzado post
				Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	
Observaciones						
CADERA						
Derecha	Izquierda	Bilateral	Fecha de Inicio de síntomas (meses)			
Dolor de cadera			Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>		
Estrechamiento espacio articular			Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>		
Osteofitos acetabulares o femorales			Si <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>		
Radiografía de cadera derecha		KL 0	KL 1	KL 2	KL 3	KL 4
Radiografía de cadera izquierda		KL 0	KL 1	KL 2	KL 3	KL 4
Observaciones						

EXAMENES DE LABORATORIO			
Cuadro hemático HB	Hcto	Plaquetas	Leucos
		Neutros	Linfos
PCR	VSG	FACTOR REMAUTOIDE	
BUN		CREATININA	

ANTECEDENTES FAMILIARES OA		ANTECEDENTES FAMILIARES	
Parentesco	Articulación	Hipertensión arterial	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
		Cardiopatía	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
		Diabetes mellitus 2	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
		Obesidad	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
		Hipercolesterolemia	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
		Cáncer	Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
		Otra	

GENEALOGÍA		
<input type="radio"/> Mujer	<input type="checkbox"/> Hombre	

OBSERVACIONES
