

**CARACTERIZACIÓN DE LOS ALELOS DEL HLA CLASE II EN
PACIENTES CON NEUROMIELITIS ÓPTICA EN BOGOTÁ,
COLOMBIA: UN ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES**

**Hellen Kreinter-Rosembaun, MD
Habib Georges Moutran-Barroso, MD**

**Grupo de Investigación en Esclerosis Múltiple y Otros Trastornos Neurológicos
Hospital Universitario-Fundación Santa Fe de Bogotá**

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
FACULTAD DE MEDICINA
POSGRADO DE NEUROLOGÍA
BOGOTÁ D.C.**

2021

Trabajo de Grado para Optar al título de Especialistas en Neurología

Hellen Kreinter Rosembaun, MD

Habib Georges Moutran Barroso, MD

ASESOR TEMÁTICO:

Jaime Toro Gómez M.D, FAAN FACP.

ASESOR METODOLÓGICO:

Fabián Cortés Muñoz, M.Sc, Ph.D

Profesor Asociado, Universidad El Bosque

Grupo de Investigación en Esclerosis Múltiple y otros trastornos neurológicos

Hospital Universitario-Fundación Santa Fe de Bogotá

UNIVERSIDAD EL BOSQUE

FACULTAD DE MEDICINA

POSGRADO DE NEUROLOGÍA

BOGOTÁ D.C.

2020

TABLA DE CONTENIDO

1. Resumen ejecutivo	5
2. Descripción del proyecto	7
2.1 Planteamiento del problema y justificación	7
2.2 Marco teórico	10
2.2.1 Neuromielitis óptica	10
2.2.2 Epidemiología	10
2.2.3 Patogénesis	12
2.2.4 Clínica, curso y discapacidad	15
2.2.5 Diagnóstico	16
2.2.6 Tratamiento	20
2.2.7 Neuromielitis óptica en Colombia	22
2.2.8 Complejo mayor de histocompatibilidad tipo II	23
2.2.9 NMO y HLA	24
2.2.10 NMO y otras enfermedades autoinmunes	25
2.3 Objetivos	27
2.3.1 Objetivo general	27
2.3.2 Objetivos específicos	27
2.4 Hipótesis del estudio	28
2.5 Pregunta de investigación	28
2.6 Metodología	29
2.6.1 Tipo de estudio	29
2.6.2 Selección de sujetos	29
2.6.3 Tamaño de la muestra y codificación	30
2.6.4 Métodos moleculares	32

2.6.5 Recolección y almacenamiento de datos	33
2.6.6 Análisis de datos	35
2.6.7 Control de sesgos	35
2.6.8 Variables	36
2.7 Cronograma de actividades	40
2.8 Resultados esperados	41
2.8.1 Relacionados con la generación de conocimiento	41
2.8.2 Conducentes a la formación de talento humano	41
2.8.3 Dirigidos a la divulgación de los resultados ante la comunidad científica	42
2.9 Consideraciones éticas	44
2.10 Bibliografía	45
3. Presupuesto	49
4. Anexos	52

1. RESUMEN EJECUTIVO

Introducción: En los últimos años, se ha estudiado la asociación de algunos alelos del complejo de antígenos leucocitarios humanos (HLA) clase II en pacientes con Neuromielitis Óptica (NMO). Sin embargo, hasta la fecha, en Colombia no existen estudios que hayan realizado la caracterización genética de esta patología en nuestra población.

Marco teórico: La NMO se define como una enfermedad inflamatoria del sistema nervioso central, caracterizada por desmielinización inmunomediada. Se presenta predominantemente en mujeres con una edad promedio de inicio a los 30 años y su prevalencia en Colombia, para el año 2015, fue de 0,28/100.000 habitantes. El entendimiento de la fisiopatología cambió tras la identificación de los anticuerpos tipo inmunoglobulina G (IgG) contra el canal de agua acuaporina-4 (AQP4), encontrado en el 80% de los pacientes. Cada vez se conoce más acerca del rol que juegan algunos alelos específicos del HLA, que identifican pacientes en riesgo de tener la enfermedad y ayudan a explicar la relación con otras patologías autoinmunes. Estudios en otros países han encontrado asociación positiva entre NMO y algunos alelos del HLA como: HLA-DRB1*03 (Francia), HLA-DRB1*09:01 (Japón) y HLA-DRB1*01-DRB1*03 (Brasil). En Colombia no existen estudios similares para NMO.

Objetivo: Establecer la asociación entre polimorfismos de alelos del gen HLA clase II y la presencia de neuro mielitis óptica en una población mixta en Colombia. Además, se caracterizarán las variables sociodemográficas, clínicas y los haplogrupos del ADN mitocondrial de los pacientes con NMO y controles sanos.

Metodología: En un estudio de casos y controles, que incluirá 85 pacientes con NMO y 340 controles sanos. Se tomará una muestra de sangre a cada participante para realizar la tipificación de haplogrupos mitocondriales y polimorfismos de HLA clase II, como también la medición de anticuerpos AQP4. Se creará una base de datos en REDCap y el análisis de datos se llevará a cabo en STATA v14.0.

Resultados esperados: Generar una mejor descripción de la NMO en Colombia, contribuyendo al conocimiento universal sobre la misma. De lo anterior, se pueden derivar

otros estudios genéticos, establecer patrones de resistencia o susceptibilidad para el desarrollo de NMO así como terapias dirigidas para el control de la enfermedad.

Palabras clave: Neuromielitis-óptica, HLA, AQP4, polimorfismos.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La neuromielitis óptica (NMO) es un trastorno inflamatorio que afecta el sistema nervioso central (SNC), con un mecanismo fisiopatológico distinto al de la esclerosis múltiple (EM). El estudio de la NMO es crítico, porque es considerada una condición que conlleva una alta carga de morbilidad y en ocasiones mortalidad, por lo que es necesario establecer un diagnóstico oportuno e iniciar tempranamente el tratamiento. También es importante recalcar otros factores, como: la sobrecarga en los cuidadores y el impacto psicosocial. La enfermedad usualmente se caracteriza por un curso con recaídas con un riesgo importante de ir generando discapacidad residual y acumulada en el tiempo. Dentro de las comorbilidades asociadas a la NMO están las físicas, cognitivas y psiquiátricas (1, 2).

La NMO, como su nombre lo indica, compromete principalmente la médula espinal y los nervios ópticos, pero también otras localizaciones frecuentes, como el área postrema, el tallo cerebral y el diencefalo. Esta patología suele presentar recaídas y tiene una mayor prevalencia en mujeres con una relación de 9:1. El descubrimiento de un nuevo biomarcador, los anticuerpos de tipo inmunoglobulina G contra la proteína acuaporina 4 (anti AQP4-IgG) mejoró enormemente la especificidad del diagnóstico. Se descubrió una variedad de afecciones con positividad del anti AQP4-IgG que requirió la acuñación del término trastornos del espectro de NMO (TENMO) (2).

Actualmente, las ciencias médicas se enfrentan a patologías de gran complejidad, como lo son las enfermedades desmielinizantes. La epigenética permite visualizar los vínculos existentes entre el medio ambiente y la genética, considerándose sido un elemento valioso que ha permitido la identificación de alelos relacionados con el grupo HLA. Por lo tanto, en un futuro se podrán identificar blancos terapéuticos que impacten en la historia natural de la enfermedad.

Los aspectos fisiopatológicos de la NMO aún no están totalmente dilucidados, por lo que existen vacíos relacionados con la certeza diagnóstica y terapéutica. Se habla principalmente de factores genéticos y medio-ambientales; afortunadamente, tras el desarrollo de diferentes tecnologías médicas, se ha podido descifrar las influencias epigenéticas en el genoma humano, así como la identificación de alelos asociados a los grupos de HLA. Los estudios de susceptibilidad genética han demostrado que el HLA-DRB1*03 está asociado con NMO en varias poblaciones, como en Brasil (3) islas del Caribe (4) Francia (5) y en la India (6). Aplicar la identificación de alelos asociados a grupos de HLA permitirá caracterizar un blanco terapéutico a futuro, especialmente para la población colombiana y optimizar la calidad de vida de estos pacientes.

La correlación del HLA se ha centrado en la presencia de anticuerpos para IgG-AQP4. Existe controversia sobre las diferentes técnicas para la identificación de estos anticuerpos. Waters et al (7) compararon 6 procedimientos distintos, encontrando que los ensayos basados en células tenían el mejor rendimiento, con una sensibilidad y especificidad de 68,3% y 100%, respectivamente. En la actualidad, la realización de estas pruebas basadas en células no está estandarizada en Colombia, por lo que se deben enviar las muestras a laboratorios en el exterior. Los reportes del Ministerio de Salud (8) y del informe de Rosselli et al (9), determinaron que la implementación de dichas pruebas en los laboratorios colombianos es la medida más costo-efectiva, por lo que recomiendan la estandarización de los ensayos basados en células en el país.

La investigación de la NMO en Colombia es limitada, sólo se cuenta actualmente con un estudio de prevalencia en Colombia y ninguno sobre HLA. A pesar de la amplia existencia de estudios acerca de NMO en Norteamérica, Asia y Europa, es un hecho reconocido que nuestra población es distinta respecto a la que habita en dichos continentes, no sólo por motivos étnicos, sino también por factores medio ambientales y geográficos. De esta manera, es pertinente ampliar el conocimiento de esta patología en Colombia y la caracterización del grupo HLA en pacientes con NMO será de gran ayuda para ofrecer respuestas a los vacíos existentes.

Este proyecto buscará identificar uno o más alelos vinculados a la NMO en la población de Bogotá-Colombia que, hasta el momento, no ha sido estudiada. Por lo tanto, estableceremos los alelos más prevalentes existentes en la población general y los usaremos como un grupo de control. Lo mencionado permitirá caracterizar a la población bogotana con la enfermedad y sin ella. Así mismo, se podrán establecer patrones de resistencia o susceptibilidad al desarrollo de NMO según sea el perfil genético del gen HLA-DRB1 de los individuos. Esta información podría ayudar a esclarecer las razones de la baja prevalencia de la NMO en Bogotá-Colombia.

En la consulta gratuita de neurología realizada en nuestra institución, se da prioridad a pacientes con enfermedades desmielinizantes como la NMO y la EM. Esto facilitará el reclutamiento de pacientes y favorecerá el seguimiento y control de todos los nuevos casos que se conozcan a raíz de su participación en el estudio. Igualmente, al servicio de neurología ingresan pacientes hospitalizados con clínica de enfermedades desmielinizantes y, en algunos casos, se confirma un diagnóstico de NMO.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 NEUROMIELITIS ÓPTICA

La neuromielitis óptica es un síndrome clínico caracterizado por ataques agudos de neuritis óptica y mielitis transversa. La primera descripción de esta entidad la hizo Allbut en 1870 que reportó un paciente que tras haber presentado mielitis hizo compromiso del nervio óptico. Posteriormente Devic en 1894, empezó a utilizar el término “neuromielitis óptica” y describió 16 casos publicados en la literatura. En 1923, Beck encuentra que si bien hay similitudes entre la esclerosis múltiple y la neuromielitis óptica, son entidades distintas. Los primeros criterios diagnósticos de la enfermedad se postulan en 1994 y son revisados en el 2006 tras el hallazgo crítico de la presencia de los anticuerpos anti acuaporina 4 que están presentes en más del 80% de los casos. En el 2007 se empieza a hablar acerca de un espectro de la enfermedad que no sólo incluye la presentación más típica sino también unas formas “frustradas” ó “inaugurales” así como el compromiso de otros lugares anatómicos en el sistema nervioso incluyendo los hemisferios cerebrales, el diencefalo y el tallo cerebral (10, 11, 12)

Uno de los descubrimientos más importantes fue la asociación con anticuerpos anti AQP4 que se relacionaban con un rango amplio de síntomas del SNC, incluso más allá de la NMO. Esto es conocido como el espectro de trastornos asociados a NMO, entre los cuales se encuentran la canalopatía autoinmune AQP4, el síndrome autoinmune de AQP4 y la encefalomiелitis AQP4 (12)

2.2.2 EPIDEMIOLOGÍA

Los datos sobre prevalencia de NMO y su espectro más amplio de la enfermedad, como lo es el TENMO son escasos, aunque en comparación con la EM, la prevalencia de NMO es comparativamente similar a nivel mundial y rara vez supera los 5 casos por 100.000 habitantes. Cabe aclarar que es difícil interpretar los estudios teniendo en cuenta que a través del tiempo han cambiado los criterios diagnósticos. Muchos de los casos diagnosticados erróneamente como EM con presentación óptica-espinal ahora, con los criterios de la clínica

Mayo del 2006, son catalogados como casos de NMO. Además el conocimiento sobre los anticuerpos ha permitido la caracterización de pacientes con mayor precisión.

Los estudios epidemiológicos y poblacionales sugieren que la prevalencia de NMO varía de $< 1/100.000$ a $4.4/100.000$ en Europa y América del Norte (10). La edad típica en los picos de inicio es de aproximadamente 30 a 45 años (13), sin embargo se han reportado casos en niños en donde la edad media de aparición es 10 años, como también en adultos mayores (14).

En Japón se estima una prevalencia entre 4.1 a 7.7 casos por 100.000. Otro estudio realizado en Japón, basado en los criterios de Wingerchuck del 2006 para NMO, identificó una prevalencia estimada fue de 1.64 por 100 000 para NMO y 3.42 para el TENMO (15, 16). La preponderancia por las mujeres es sustancialmente mayor cuando hay seropositividad frente a pacientes seronegativos. La mayoría de los casos de NMO son esporádicos, aunque se han reportado casos familiares raros que no se pueden distinguir de los primeros con respecto a la presentación clínica, la distribución por edad y el sexo (10).

La figura 1 muestra la prevalencia estimada de NMO y TENMO por país o área. La prevalencia es relativamente similar en las áreas descritas de 5 o menos por cada 100.000 habitantes, excepto por Martinica que tiene una prevalencia de 10 por cada 100.000 (17). Aunque en un estudio de Australia y Nueva Zelanda se informó una menor prevalencia con latitud creciente, y hasta el momento, no se ha establecido un gradiente de latitud en la prevalencia de NMO/TENMO (18). La prevalencia global similar sugiere que los orígenes étnicos o genéticos no juegan un papel protagónico en el desarrollo de NMO/TENMO, y la falta de la participación de la latitud en la prevalencia de NMO/TENMO argumenta en contra de un papel importante para la exposición solar y los niveles de vitamina D en conferir el riesgo de enfermedad individual (15). Por lo tanto, la epidemiología y los factores de riesgo para EM y NMO/TENMO son diferentes, lo que indica una fisiopatología distinta entre ambas entidades.

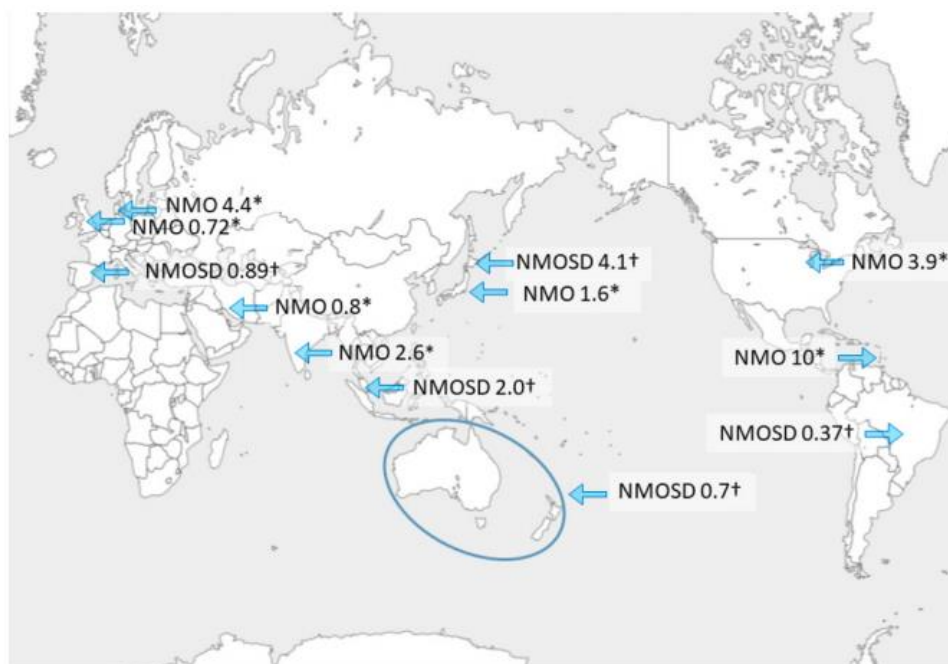


Fig. 1 Prevalencia de neuromielitis óptica (NMO) o trastornos del espectro de neuromielitis (TENMO) definidos por Wingerchuk 2006 o del Panel Internacional para NMO diagnosis 2015 criterios diagnósticos. Tomado de: Mori, M et al. Worldwide prevalence of neuromyelitis optica spectrum disorders J Neurol Neurosurg Psychiatry Month 2018 Vol 0 No 0.

En Colombia, para el año 2013, se calculó una prevalencia de la enfermedad en 0,36 casos por cada 100.000 habitantes, con un valor de 0,24 para mujeres y 0,12 para hombres por cada 100.000 habitantes (9). Para el año 2015, un reporte del Ministerio de Salud de Colombia en un informe sobre enfermedades huérfanas, estableció la prevalencia en 0,28 por cada 100.000 habitantes (8).

2.2.3 PATOGÉNESIS

Aún no se entiende a la perfección el mecanismo patogénico de la NMO, sin embargo, se conoce que los anticuerpos IgG contra AQP4 tienen un rol importante en el mecanismo de la enfermedad. La AQP4 es una proteína que funciona como un canal de transporte de agua y se expresa en altas concentraciones a nivel perivascular y en los procesos pediculares de los

astrocitos, en relación directa con la lámina basal del endotelio y la pia. Este canal juega el papel del antígeno, donde la principal lesión va a estar dada por depósito de IgG y complemento produciendo un daño inicial en los astrocitos con subsecuente compromiso de oligodendrocitos y neuronas. Teniendo en cuenta este mecanismo fisiopatológico, se describe a la NMO con anticuerpos AQP4 como una “astrocitopatía autoinmune”. Ocurre de forma diferente cuando la NMO se asocia con anticuerpos MOG donde el evento primario es de desmielinización (10, 12, 19)

Los Anti AQP4-IgG son producidos principalmente por células plasmáticas en la sangre periférica y obtiene acceso al sistema nervioso central a través de dos mecanismos principales: el primero por transcitosis endotelial y el segundo en áreas de permeabilidad o lesión relativa de la barrera hematoencefálica como ocurre con los órganos circunventriculares (13, 20). Posteriormente, la interacción antígeno-anticuerpo conduce a la activación de la cascada del complemento que concluye en el complejo de ataque de membrana. Los granulocitos incluyendo macrófagos, neutrófilos y eosinófilos, migran a la región por quimiotaxis y existe citotoxicidad celular. Este hallazgo se correlaciona con la presencia de neutrófilos, eosinófilos y algunas citoquinas como la IL-6 en el LCR en el ataque agudo de la enfermedad. Otras células involucradas son las células B y los plasmocitos cuya presencia se favorece por un “entorno amigable” caracterizado por presencia de BAFF (reclutador de células B), APRIL y CXCL13. Este entorno es el resultado de la activación del sistema inmune, los astrocitos y los linfocitos T ayudadores, necesarios para el cambio de isotipo y la maduración de linfocitos B (6, 10, 12, 21) (ver figura 2).

A nivel del sistema nervioso los canales AQP4, se expresan de forma importante en el tallo, hipotálamo, diencéfalo, médula espinal y nervios ópticos, ubicaciones que se correlacionan con la distribución frecuente de las lesiones desmielinizantes. También se han encontrado en la periferia en tejidos como el riñón, el estómago o la placenta; sin embargo, en estos sitios no se ve la inflamación propia de la enfermedad. Se cree que lo anterior ocurre por una mayor co-expresión de factores reguladores de la activación del complemento como el CD46, CD55 y CD59 (12).

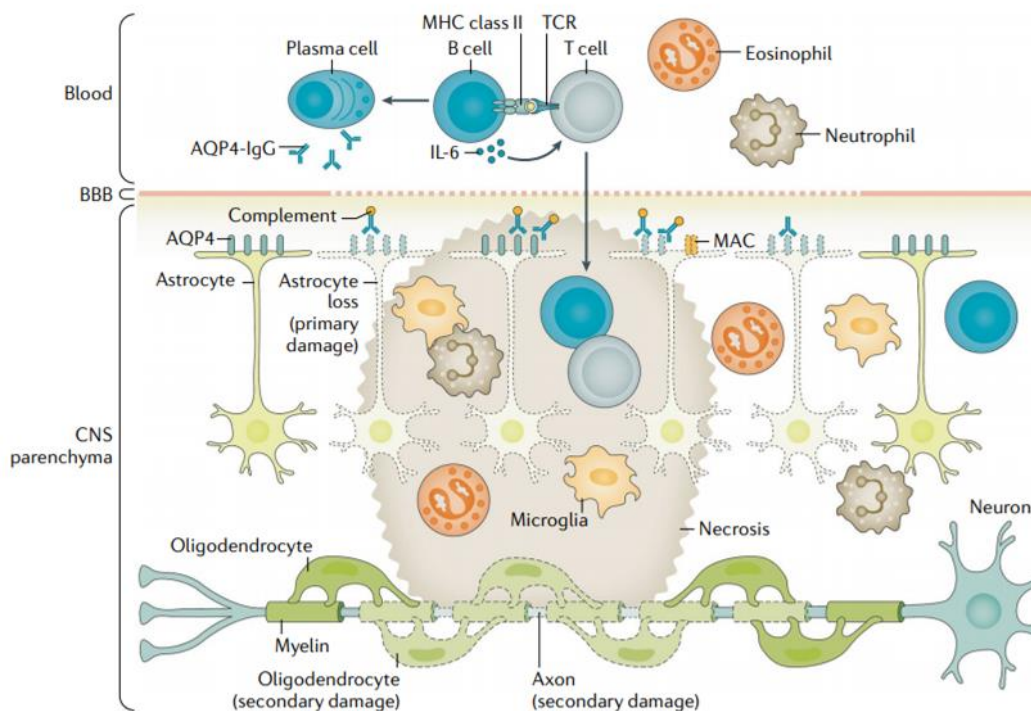


Fig. 2 Mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad en individuos con AQP4.

Las lesiones se caracterizan por el depósito de IgG-AQP4 y del complemento en los procesos pediculares de los astrocitos. Secundariamente también hay lesión de los oligodendrocitos y de las neuronas. Varios tipos de células del sistema inmune están presentes incluyendo: macrófagos/microglía, neutrófilos, eosinófilos, células T y células B. La inflamación severa lleva a necrosis y lesiones cavitadas. Tomado de: Jarius S, Paul F, Weinshenker BG, Levy M, Kim HJ, Wildemann B. Neuromyelitis optica. Nat Rev Dis Primers 2020 10 22;6(1):85.

2.2.3.1 ETIOLOGÍA

Hasta el momento, no existe ningún agente ambiental específico asociado a la génesis de la NMO. Aunque se ha descrito que un tercio de los ataques de NMO vienen precedidos por fiebre o por la aplicación de una vacuna. El factor de riesgo más importante que se ha encontrado es ser mujer. Los estudios de susceptibilidad genética han demostrado que HLA-DRB1*03 puede estar asociado con NMO. Un resultado similar se informó de Brasil, la India,

las islas del Caribe y Francia. La mayoría de los casos de NMOSD son esporádicos, aunque rara vez se han informado formas familiares (2, 6, 12).

2.2.4 CLÍNICA, CURSO Y DISCAPACIDAD

Las características clásicas de NMO son neuritis óptica (NO) bilateral o rápidamente secuencial y mielitis transversa longitudinalmente extensa (MTLE) que se extiende desde al menos tres segmentos vertebrales o más. La aparición concomitante de NO y mielitis transversa (MT) se observa en el 15-40% de los casos. Es difícil diferenciar la NO asociada con TENMO de la observada en la EM. El compromiso severo de la agudeza visual, así como la NO bilateral simultánea o secuencial sugiere un TENMO en lugar de una EM. Las lesiones de la médula espinal generalmente se presentan como mielitis transversa completa que llevan a cuadriplejía total o paraplejía con un nivel sensitivo definido y con compromiso del control de los esfínteres, especialmente el vesical. Otros síntomas descritos que ayudan a configurar el espectro de la enfermedad incluyen: vómito o hipo intratables, narcolepsia, encefalopatía, nistagmus, diplopía, obesidad, hipotensión, bradicardia o hipotermia. Estos se relacionan con el compromiso a nivel del tallo, el área postrema, diencefalo e hipotálamo. También se ha descrito una falla respiratoria aguda neurogénica que puede llevar al paciente a la muerte (2).

El inicio de la enfermedad es usualmente aguda y en aproximadamente el 60% de los casos hay un pródromo de síntomas gripales que preceden el déficit neurológico. En un 75% de pacientes la primera manifestación es neuritis óptica (NO), 33% mielitis y NO con mielitis en un 10% (14). La mayoría de los pacientes con NMO y anticuerpos AQP4 tienen un curso con recaídas si no se da un tratamiento para la enfermedad. Se ha descrito también un curso monofásico que usualmente se asocia más con anticuerpos MOG (12, 19).

Aunque los síntomas se pueden resolver completamente luego del ataque agudo sobre todo si se tratan de forma temprana, dos estudios europeos han mostrado que hay un porcentaje de pacientes que no se recuperan o lo hacen sólo parcialmente. Este es el caso para el 66% de los ataques de NO y el 80% de los ataques de MT en pacientes con IgG-AQP4. Para anti MOG, los porcentajes son menores, un 48% en la NO y 65% en MT (12).

Generalmente, la NMO no es una enfermedad progresiva, aunque con cada ataque de NO y mielitis se acumula discapacidad. Cerca de 60% de los pacientes muestran una incapacidad severa para la deambulación de acuerdo a un puntaje en la escala EDSS (escala expandida del estatus de discapacidad) mayor a 6 o ceguera monocular después de 7 u 8 años de curso de la enfermedad (10). La escala EDSS originalmente descrita para EM, tiene como limitación que no incluye el déficit visual, por lo que un paciente con ceguera total no alcanza un puntaje mayor a 4 (12). De acuerdo a lo anterior, se han creado escalas para intentar cuantificar la discapacidad generada por la enfermedad. Actualmente la que más se utiliza es la de Kurtzke (Expanded Disability Status Scale). También se han empleado otras herramientas que exploran distintos dominios de la patología. Algunos ejemplos son: “Quality of Life Short Form 36 (SF-36)” que evalúa calidad de vida en las últimas 4 semanas, la “Modified Fatigue Impact Scale” y la “Center for Epidemiologic Studies Depression Scale” que evalúa la salud mental. (22).

La gran mayoría de muertes por NMO son el resultado de cuadros de mielitis cervical ascendente severa o compromiso del tallo cerebral que lleva a falla respiratoria. Lo anterior fue resaltado en un estudio donde se evidenció falla respiratoria en 16 pacientes con enfermedad tipo recaída (n=48), mientras que sólo se diagnosticó dos veces en pacientes con enfermedad tipo monofásica (n= 23). Ambos pacientes con enfermedad monofásica se recuperaron, no obstante 15 de los 16 pacientes con enfermedad tipo recaída fallecieron (10, 23).

2.2.5 DIAGNÓSTICO

En el año 1994, Wingerchuk estableció los criterios diagnósticos de esta enfermedad, y en el 2006 fueron incluidos los anticuerpos AQP4. En el año 2015 se caracterizó con mayor precisión la extensión de la enfermedad, teniendo en cuenta las características clínicas, la seropositividad de IgG-AQ4 y los hallazgos imagenológicos (24).

Los pacientes seropositivos pueden manifestar formas limitadas de la enfermedad, que incluyen la neuritis óptica (NO) aislada unilateral o bilateral recurrente, mielitis transversa recurrente, mielitis asociada con trastornos del colágeno, y se denomina libremente como

TENMO. Con los últimos criterios diagnósticos para el 2015, se incluyeron otros síndromes asociados a la NMO, como el síndrome del área postrema, otros síndromes del tronco encefálico, síndrome diencefálico, narcolepsia sintomática y el síndrome cerebral sintomático con hallazgos de resonancia nuclear magnética (RMN) asociados (tabla 1).

Los pacientes que son positivos para IgG-AQ4 deben tener al menos una característica clínica central para un diagnóstico de TENMO. El único requisito adicional es la exclusión de diagnósticos alternativos, como lo es la EM. Los criterios de diagnóstico son más estrictos para los pacientes que son negativos para IgG-AQ4 o cuando se desconoce el estado de IgG-AQ4. Estos pacientes deben tener al menos dos características clínicas centrales y cumplir con los siguientes requisitos para el diagnóstico de un TENMO:

1. Al menos una característica clínica central debe ser neuritis óptica, mielitis aguda con mielitis transversa longitudinalmente extensa (MTLE) o síndrome de área postrema.
2. Disseminación en el espacio (dos o más características clínicas centrales diferentes).
3. Cumplimiento de los requisitos adicionales de RMN, según corresponda.

Es de destacar que las dos características clínicas centrales requeridas pueden estar separadas por cualquier período de tiempo o pueden ocurrir dentro de un solo episodio clínico. También es importante resaltar que en cuanto al test serológico de los anticuerpos, hay un consenso de expertos en que se debería utilizar el ensayo basado en células tanto para los IgG - AQP4 como para los IgG- MOG (12).

Tabla 1. Criterios de diagnóstico del trastorno del espectro de neuromielitis óptica para pacientes adultos

Criterios de diagnóstico del trastorno del espectro de neuromielitis óptica para pacientes adultos
Criterios de diagnóstico para los trastornos del espectro de neuromielitis óptica (NMO) con AQP4-IgG: 1. Al menos una característica clínica central 2. Prueba positiva para AQP4-IgG utilizando el mejor método de detección disponible (se recomienda el análisis basado en células). 3. Exclusión de diagnósticos alternativos.

Criterios de diagnóstico para el TENMO sin AQP4-IgG o trastornos del espectro NMO con estado desconocido de AQP4-IgG 1. Al menos dos características clínicas centrales que se producen como resultado de uno o más ataques clínicos y que cumplen con todos los siguientes requisitos: a. Al menos una característica clínica central, como: neuritis óptica, mielitis aguda con lesiones de mielitis transversa (LETM) longitudinalmente extensas o síndrome de postrema de área. b. Difusión en el espacio (dos o más características clínicas centrales diferentes). c. Cumplimiento de requisitos adicionales de resonancia magnética, según corresponda. 2. Pruebas negativas para AQP4-IgG utilizando el mejor método de detección disponible o pruebas no disponibles. 3. Exclusión de diagnósticos alternativos.
Características clínicas centrales 1. Neuritis óptica 2. Mielitis aguda 3. Síndrome del área postrema: episodio de hipo inexplicable, náuseas o vómitos persistente 4. Síndrome del tronco encefálico agudo 5. Narcolepsia sintomática o síndrome clínico diencefálico agudo con TENMO asociado con lesiones típicas de resonancia magnética 6. Síndrome cerebral sintomático con TENMO asociado con lesiones cerebrales típicas
Requisitos de resonancia magnética adicionales para el TENMO sin AQP4-IgG y los trastornos del espectro NMO con estado desconocido de AQP4-IgG 1. Neuritis óptica aguda: requiere resonancia magnética cerebral que muestra hallazgos normales o sólo lesiones inespecíficas de la sustancia blanca ó hallazgos resonancia magnética del nervio óptico con lesiones hiperintensas T2 o lesión que capte gadolinio en T1 que se extiende por más de la mitad de la longitud del nervio óptico o que implica quiasma óptico. 2. Mielitis aguda: requiere una lesión de resonancia magnética intramedular asociada que se extiende sobre tres o más segmentos contiguos (MTLE) ó más de tres segmentos contiguos de atrofia focal de la médula espinal en pacientes con antecedentes previos compatibles con mielitis aguda. 3. Síndrome del área postrema: requiere lesiones asociadas de médula dorsal en el área postrema. 4. Síndrome del tronco encefálico agudo: requiere lesiones periependimarias del tronco encefálico.

2.2.5.1 RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Desde los primeros estudios en pacientes con NMO, se han descrito hallazgos inespecíficos con hiperintensidades en la sustancia blanca que predominan en regiones con gran cantidad de AQP4. Incluso antes de la descripción de los anticuerpos se reconocía que aproximadamente entre el 13% al 46% de los pacientes presentaba anormalidades en la neuroimagen. Luego se evidenció que estas anormalidades estaban desde el inicio de la enfermedad en un porcentaje mucho mayor, alcanzando un 70%. Algunas de las localizaciones preferenciales son: peri endimarias rodeando el sistema ventricular, en la sustancia blanca de los hemisferios cerebrales y a nivel de los tractos cortico-espinales. La presencia de una lesión adyacente al cuarto ventrículo, en el tallo dorsal que compromete el

área postrema y el núcleo del tracto solitario, es una de las características más específicas del NMOSD. Las lesiones en el cuerpo calloso pueden aparecer en un 12-40% de los pacientes. El realce con contraste es típicamente de tipo en parche o como de “nube” con márgenes pobremente delimitados (25).

En los nervios ópticos encontramos hiperintensidades en secuencias con información T2 y realce con gadolinio en secuencias T1 en el ataque agudo de neuritis óptica. Por imagen hay características que nos ayudan a diferenciar una neuritis óptica de la esclerosis múltiple sobre una NMO. Hay una tendencia en que las lesiones en NMO sean posteriores con compromiso del quiasma óptico, bilaterales y longitudinalmente extensas (25).

Las regiones que más comúnmente se ven afectadas de la médula espinal son la cervical y la torácica alta. No es infrecuente encontrar lesiones que se continúen desde la porción bulbar. De forma distintiva la mielopatía es longitudinalmente extensa, es decir con compromiso de al menos tres segmentos vertebrales contiguos y con preferencia por la zona central de la médula espinal. La inflamación se va a observar como hiperintensidad en T2 e hipointensidad en T1 en el evento agudo. En el seguimiento, las lesiones se pueden ver más cortas y crónicamente aparece atrofia de la médula en los segmentos comprometidos (25).

2.2.5.2 ESTUDIOS ADICIONALES

El estudio del líquido cefalorraquídeo (LCR) no es necesario para el diagnóstico, pero puede ser de utilidad para evaluar la presencia de inflamación a nivel del sistema nervioso y para descartar otros diagnósticos diferenciales. A favor de que se trate de una NMO están la ausencia de bandas oligoclonales, pleocitosis mayor de 50 leucocitos por microlitro con presencia de neutrófilos o eosinófilos, elevación de proteínas mayor que en MS y elevación del índice de albúmina en LCR sobre la muestra en suero (Qalb) (12). Se ha propuesto el uso de la proteína ácida fibrilar glial para apoyar el diagnóstico de la enfermedad, dado que se eleva durante las recaídas y que adicionalmente se relaciona con la discapacidad medida por escala EDSS (19).

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es un método no invasivo que también puede ser de utilidad. En ataques agudos de NO en NMO con anticuerpos AQP4, se produce un adelgazamiento más severo de la capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL) y de la capa de células ganglionares/plexiforme interna (GCIPL) que en EM (12).

En los potenciales evocados visuales se puede encontrar prolongación de latencias P100 en relación con retraso de la conducción por el nervio óptico secundario a desmielinización y reducción de amplitudes por daño axonal (12)

2.2.6 TRATAMIENTO

El tratamiento está enfocado en evitar la progresión y las recaídas, dar un manejo sintomático y buscar restaurar las funciones neurológicas perdidas. No hay un algoritmo de tratamiento estandarizado, cualquier recomendación está limitada por el pequeño tamaño de la mayoría de los estudios que en su mayoría fueron series de casos retrospectivas. Podemos diferenciar el tratamiento en dos fases, la primera para el ataque agudo y la segunda para el manejo inmunosupresor a largo plazo (10, 11).

Las recaídas se tratan con metilprednisolona intravenosa en dosis altas por al menos 3 a 5 días consecutivos. Si el tratamiento se inicia de forma temprana, es decir, en menos de 4 días del inicio de los síntomas, la posibilidad de recuperar la visión aumenta. Pasa lo contrario si se inician los esteroides luego de llevar 7 días de síntomas. Si la recuperación es incompleta o lenta, se acepta continuar con esteroide oral con desescalamiento progresivo por 2 a 6 meses. Cuando la respuesta es insuficiente, los pacientes pueden beneficiarse de escalar manejo rápidamente a plasmaféresis, inmunoglobulinas intravenosas o inmunoabsorción. La plasmaféresis incluso puede considerarse como tratamiento inicial ante un compromiso severo especialmente cuando hay MT. El uso simultáneo o concomitante de metilprednisolona y plasmaféresis ha demostrado mejoría en agudeza visual, campimetría y mayor preservación de la capa de fibras de la retina nasal. En los pacientes en los que tanto los esteroides como la plasmaféresis no mejoran los síntomas, se puede considerar el uso de la ciclofosfamida. (ver figura 3) (2, 10, 12, 26)

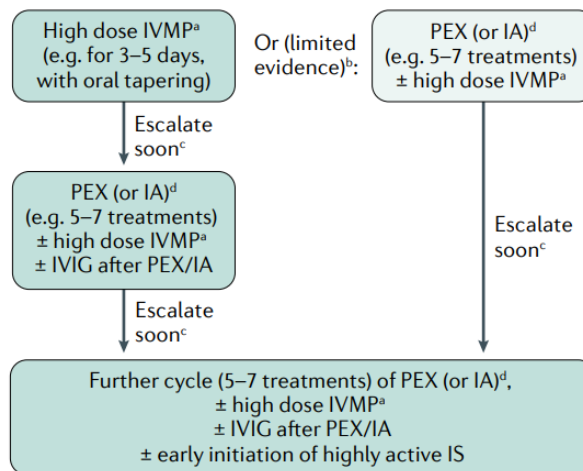


Fig. 3 Algoritmo de manejo propuesto para el manejo del ataque agudo en NMO. Tomado de: Jarius S, Paul F, Weinshenker BG, Levy M, Kim HJ, Wildemann B. Neuromyelitis optica. Nat Rev Dis Primers 2020 10 22;6(1):85.

Para realizar la inmunosupresión como tratamiento base, usualmente se utilizan terapias que tienen como objetivo principal las células B, tales como el rituximab o azatioprina. Otras alternativas en el tratamiento a largo plazo son el micofenolato, metotrexato y prednisona (10). La terapia inmunosupresora con azatioprina, ciclofosfamida o rituximab puede disminuir los títulos de IgG-AQP4 durante la remisión, sin embargo, puede haber disminución de actividad aún con niveles elevados de los anticuerpos. Estudios clínicos recientes sugieren que la administración de tocilizumab, un anticuerpo monoclonal anti receptor de IL-6, podría tener un efecto benéfico en la NMO (27).

Debido a la mayor disponibilidad de información clínica, los medicamentos de primera línea para mantenimiento son azatioprina, micofenolato mofetil y rituximab. En segunda línea se encuentran metotrexate, mitoxantrona y ciclosporina. La azatioprina es un antimetabolito que interfiere con la proliferación de linfocitos y ha demostrado reducción de recaídas anuales de 2.20 a 0.52 en un intervalo de 22 meses. Es importante resaltar que su inicio de acción se encuentra entre 3-6 meses, por lo que la terapia concomitante con dosis bajas de corticoesteroides se utiliza comúnmente (26).

Actualmente los anticuerpos monoclonales como el eculizumab, satralizumab e inebilizumab han sido aprobados por la FDA para el manejo de pacientes con NMO con anticuerpos AQP4 positivos. Estas terapias se introducen teniendo en cuenta la fisiopatología de la enfermedad, con un blanco terapéutico mucho más específico (12). El eculizumab tiene su acción sobre la cascada del complemento a través de la inhibición del clivaje de C5. Su efectividad para reducir recaídas se demostró en el estudio PREVENT fase III (28). Se recomienda la vacunación para el meningococo al menos 2 semanas antes de iniciar esta medicación. El satralizumab tiene una acción anti interleuquina 6 y su eficacia se ha demostrado en dos estudios fase III: SAkuraSky (como terapia adyuvante) y en SAkuraStar (como monoterapia) (29, 30). El inebilizumab es un depletor de células CD19 que se expresa también en células plasmáticas que son la principal fuente de anti AQP4. Demostró ser efectivo para prevenir recaídas en el subgrupo de pacientes con la presencia de anticuerpos AQP4 en el estudio N-Momentum (31). Es importante resaltar que a pesar de la efectividad de estos nuevos medicamentos, el costo si es más elevado por lo que se consideran más para casos refractarios (12).

2.2.7. NEUROMIELITIS ÓPTICA EN COLOMBIA

El comportamiento de la NMO en Colombia es incierto debido a que hasta el momento no existen muchos datos epidemiológicos que mencionen la prevalencia o incidencia de la enfermedad, al igual que las características de la enfermedad en la población colombiana. Sin embargo, el Ministerio de Salud en un documento publicado en el 2015 reportó que la distribución porcentual aproximada de la NMO en Colombia es de 0,28 (8).

En la consulta gratuita de neurología de la Fundación Santa Fe de Bogotá contamos con un grupo de pacientes con diagnóstico de NMO de diferentes partes del país, los cuales se encuentran en tratamiento, cumplen con los criterios diagnósticos según la última revisión y serán caracterizados como parte de este estudio.

2.2.8. COMPLEJO MAYOR DE HISTOCOMPATIBILIDAD TIPO II

El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) se asocia con la capacidad del organismo de diferenciación entre lo propio y lo extraño. En humanos se conoce como HLA (antígeno leucocitario humano), ya que estos antígenos se descubrieron utilizando alo-anticuerpos contra los leucocitos. El MHC participa en el desarrollo de la inmunidad humoral, así como de la inmunidad celular (32).

El MHC, se ubica a nivel del brazo corto del cromosoma 6 (6p21) y corresponde a aproximadamente 3600 kilobases de ADN. Se conoce como el sistema genético más polimórfico en humanos y existen múltiples alelos para el gen tanto del MHC tipo I como para el tipo II (32, 33). Los loci que codifican el MHC humano se encuentran en estrecha relación, por lo que suelen heredarse como haplotipos. A la heterogeneidad de este grupo de genes debe agregarse el índice de recombinación por entrecruzamiento que contribuye a una mayor diversidad de alelos (34).

Existen tres principales moléculas que hacen parte del MHC:

- MHC I: glucoproteínas que se expresan en casi todas las células que cuentan con núcleo. Contiene los genes HLA-A, HLA-B y HLA-C que codifican cadenas pesadas de moléculas de clase I.
- MHC II: codifican moléculas como HLA-DR, HLA DP y HLA DQ que se expresan en células presentadoras de antígenos (APC) y pueden ser inducidas durante procesos inflamatorios en otras células. Tiene subregiones que contienen genes A y B y codifican las cadenas pesadas alfa y beta respectivamente. Cuenta con una región intracelular y otra extracelular, de tal manera que la región extracelular se divide en segmentos de 90 aminoácidos nombrados como a1, a2, b1, b2. La hendidura donde se unen los péptidos está formada por la unión entre los segmentos a1 y b1 que corresponden a las regiones que cuentan con mayor cantidad de polimorfismos (35).
- MHC III: codifican varias proteínas que desempeñan funciones inmunitarias. Contiene genes para componentes del complemento (C2, C4 y factor B), 21-hidroxilasa, factor de necrosis tumoral, entre otros (32, 34)

De esta forma las moléculas de MHC II se unen a péptidos y los presentan a linfocitos T CD4+. Generalmente, estos péptidos pueden ser diversos y provienen del proceso endocítico. Muchas variantes alélicas de moléculas MHC son conocidas, sin embargo, las personas solo cuentan con 12 moléculas con las cuales las células presentadoras de antígenos deben presentar péptidos antigénicos a células T, dando como respuesta una reacción inmune concreta a cada estímulo.

2.2.9 NMO y HLA

Desde su primer descubrimiento y en estudios posteriores a principios de la década de 1970, el principal MHC con sus polimorfismos han sido una guía para establecer el perfil genético de determinadas enfermedades autoinmunes, como lo es la EM. Los HLA desempeñan un papel crucial en el riesgo genético de la NMO, en la comprensión de su patogénesis y el diagnóstico diferencial principalmente de la EM y también de otras enfermedades desmielinizantes (13, 20)

Recientemente se ha demostrado que el alelo HLA-DRB1*15: 01 es el principal alelo independiente y responsable de atribuir el riesgo genético en diferentes grupos étnicos de EM, y así mismo juega un papel protector para la NMO. El alelo HLA DRB1*03 es muy frecuente en pacientes caucásicos positivos para la anti AQP4-IgG, mientras que HLA-DPB1*05: 01 es el alelo predominante en la población japonesa (13).

Contemporáneamente, se ha descrito la asociación entre el espectro de NMO con el HLA-DPB1*05: 01 (36, 37). El HLA-DPB1 * 05: 01 es el alelo DPB1 más común en Japón, lo que puede explicar la aparición frecuente de anticuerpos anti-AQP4 en esta población con NMO (38). Posteriormente, se ha asociado otros alelos como factores de asociación con la NMO, como lo son el HLA-DPB1*03:01, HLADRB1*01, HLADRB1*09, HLADRB1*14, HLA-DRB1*15, entre otros (5, 13)

Gontika et al describió que los alelos HLA-DRB1*01-DRB1*0301 estaban presentes en pacientes caucásicos positivos para IgG-AQP4, mientras el HLA-DQA1*0102 era prevalente

en el mismo grupo de pacientes seronegativos para IgG-AQP4 (13). En Brasil, se correlacionó una alta frecuencia de NMO en pacientes con HLA-DRB1*01-DRB1*03 (3). Deschamps et al describieron la genética de esta enfermedad en una población francesa, encontrando alta frecuencia del HLA-DRB1*03 en pacientes y una asociación negativa con la enfermedad en aquellos con HLA-DRB1*11 (4).

La constante correlación de los alelos descritos con la NMO, EM y otras enfermedades inmunológicas, son reflejo de los diferentes mecanismos inmunopatogénicos subyacentes a la génesis de estas entidades. Particularmente, el alelo ya fuertemente establecido y más frecuente HLA-DRB1*15: 01, asociado con la EM, juega un papel protector para la NMO. Además, se ha descrito que los alelos HLA-DRB1*12, como HLA-DRB1*01 y especialmente HLA-DRB1*09, juegan un papel central en el riesgo o protección de NMO respectivamente. Por otro lado, también se ha establecido que los diferentes alelos HLA están asociados con diferentes grupos étnicos, como los descritos en las poblaciones latinoamericanas, europeas y asiáticas (13).

Por lo tanto, el perfil de HLA en un paciente con una enfermedad desmielinizante tiende a resaltar diferentes características inmunológicas, fisiopatológicas y endofenotípicas, hechos claves para la comprensión de la enfermedad así como de su terapéutica. La utilización de los alelos HLA como biomarcadores para NMO es una herramienta prometedora para establecer pronóstico, estratificación temprana de los pacientes y redireccionamientos terapéuticos.

2.2.10 NMO y otras enfermedades autoinmunes

Existe una fuerte asociación entre NMO y otras enfermedades autoinmunes, especialmente en pacientes con anti-AQP4 positivo, como: lupus eritematoso sistémico (LES), síndrome de Sjogren (SS), tiroiditis autoinmune, enfermedad celíaca, sarcoidosis y miastenia gravis (MG) (39). Esta asociación conjunta podría deberse a factores genéticos comunes, como los genes HLA y no HLA, así como otros mediadores inmunológicos.

La comorbilidad de la NMO con otras enfermedades autoinmunes continúa siendo un punto de muchas preguntas. Esta comorbilidad se refleja altamente en el perfil de HLA y la presencia de anticuerpos anti-AQP4, lo que sugiere vías comunes en su inmunopatogénesis.

2.3 OBJETIVOS

2.3.1 Objetivo general

1. Establecer la asociación entre polimorfismos de alelos del gen HLA clase II y la presencia de neuromielitis óptica en una población mixta en Colombia.

2.3.2 Objetivos específicos

1. Caracterizar en variables sociodemográficas y clínicas los pacientes con NMO y controles sanos a fin de identificar similitudes y diferencias en las mismas.
2. Caracterizar el componente étnico de una población con neuromielitis óptica en Bogotá-Colombia a través de la determinación de haplogrupos del ADN mitocondrial.

2.4 HIPÓTESIS DEL ESTUDIO

Hipótesis nula: No existe asociación alguna entre los haplotipos del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II y la Neuromielitis Óptica.

Hipótesis alterna: Existen haplotipos del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II que se relacionan con la Neuromielitis Óptica.

2.5 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe algún haplotipo del complejo mayor de histocompatibilidad tipo II que se encuentre en mayor proporción en pacientes con NMO en la ciudad de Bogotá?

2.6 METODOLOGÍA

2.6.1 TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio observacional analítico de tipo casos y controles. Serán considerados como casos aquellos sujetos diagnosticados con NMO y como controles aquellos sin diagnóstico de NMO y sin signos clínicos de enfermedad autoinmune o sistémica.

Se medirán los siguientes parámetros:

1. Seropositividad para anticuerpos anti-AQP4 en suero.
2. Genotipificación de haplogrupo HLA tipo II.

2.6.2 SELECCIÓN DE SUJETOS

Los pacientes participantes en el estudio se reclutarán a partir del grupo de pacientes con NMO de la Fundación Santa Fe de Bogotá y la consulta gratuita de neurología por medio de una convocatoria pública. También se invitará a participar a aquellos pacientes con NMO que sean valorados en la fundación Santa Fe por el departamento de Neurología.

Los controles serán familiares de los casos (hermanos, padres) con edad similar a ellos, sin NMO que voluntariamente participen en el estudio. Para completar el número de controles de no contar con los 4 familiares, se tendrá en cuenta una de las siguientes dos opciones:

- Pacientes que consulten a la fundación Santafé o la consulta gratuita de neurología el mismo día del caso con otros diagnósticos no relacionados con enfermedades desmielinizantes.
- Amigos o vecinos del caso que se identifiquen el mismo día.

Criterios de Inclusión para pacientes con NMO:

1. Diagnóstico de NMO según criterios de Wingerchuk realizado por un neurólogo(a).
2. Aceptar de forma voluntaria participar en el estudio y firmar consentimiento informado.
3. Tener una edad entre los 18 y 60 años.

Criterios de exclusión para casos:

1. Tener diagnóstico de cualquier enfermedad autoinmune que pueda ocasionar una clínica similar a NMO.

Criterios de inclusión para controles sanos:

1. Ser familiar (hermanos o padres) del caso o si no se alcanza el número de controles por caso, alguna de las siguientes dos opciones:
 - Pacientes que consulten a la fundación Santafé o la consulta gratuita de neurología excluyendo patologías autoinmunes y desmielinizantes.
 - Amigos o vecinos del caso.
2. Aceptar voluntariamente participar en el estudio y firmar el consentimiento informado.
3. Edad entre 18-60 años.

Criterios de exclusión para controles sanos:

1. Tener diagnóstico de NMO

El protocolo en cuestión será explicado a la totalidad de individuos que quieran participar y respondan a la convocatoria (ver Anexo 1). Aquellos que deseen ingresar al estudio deberán aprobar y firmar el documento de consentimiento informado (ver Anexo 1) en conformidad de lo establecido en la Resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud para la investigación en seres humanos.

2.6.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA Y CODIFICACIÓN

La estimación del tamaño de la muestra se basó en la identificación de algunas variantes genéticas establecidas previamente en la literatura como asociadas a la presencia de la enfermedad. De este modo, a fin de identificar polimorfismos que se asocian como factor protector para el desarrollo de neuromielitis óptica, se tomaron los resultados del estudio de Yoshimura et al (2013) [27] (OR = 0.183) como referencia para la estimación de los *odds ratio* en este escenario. Para variantes genéticas asociadas como factor de riesgo, fueron

utilizados los resultados de Deschamps et al (2011) [6] (OR= 2.4, frecuencia del polimorfismo en los controles del 13%) para el acercamiento al tamaño muestra en este escenario.

En ambos casos, fueron definidos los siguientes parámetros: $\alpha = 0.05$, $\beta = 0.2$, con una estimación a dos colas y una relación de caso/control de 1:4 como estrategia para aumentar el poder estadístico debido a la baja incidencia de la enfermedad de interés.

Los tamaños de la muestra fueron estimados utilizando la fórmula del método del arcoseno propuesto por Siliito (1949)^[1] contenida en el software Tamaño de la Muestra, la cual se relaciona a continuación:

$$n = \frac{\left(Z_{1-\frac{\alpha}{2}} + Z_{1-\beta}\right)^2}{\left\{\frac{4k}{k+1}\right\} \left\{\arcsen(\sqrt{P_c}) - \arcsen(\sqrt{P_{nc}})\right\}^2}$$

Siendo $k = 4$ y P_c y P_{nc} la frecuencia de la variante genética esperada en el grupo de casos y no casos respectivamente.

Así, el tamaño de la muestra necesaria para estimar variantes genéticas asociadas de manera positiva con la enfermedad es de 425 individuos, 85 casos y 340 controles. Igualmente, en caso de variantes asociadas de manera negativa, el estimado fue de 295 individuos, 59 casos y 236 controles.

De este modo, el tamaño muestra ideal está representado por 425 individuos, 85 casos y 340 controles.

[1] Siliito GP. Note on approximations to the power function of the 2 x 2 comparative trial. Biometrika 1949;36:347-52.

2.6.4 MÉTODOS MOLECULARES

Toma de muestras y extracción de ADN

Una bacterióloga entrenada con el sistema vacutainer y debidamente certificada tomará 10 ml de sangre de cada sujeto en 2 tubos de tapa amarilla en los consultorios de investigación de la Fundación Santa Fe de Bogotá. Se hará la respectiva marcación de las muestras y se iniciará la cadena de custodia para el desplazamiento de las muestras al Laboratorio de Genética Humana de la Universidad de Los Andes. Las muestras serán almacenadas en una cadena de frío a 4°C, la cual continuará una vez lleguen al laboratorio a la espera de ser analizadas. La sangre total se centrifugará y se extraerá la capa de leucocitos para obtener el ADN. El ADN se extraerá utilizando la técnica de Salting-Out con el protocolo FlexiGene de Qiagen.

El kit de ADN de FlexiGene permite una purificación rápida de ADN de sangre total y células en cultivo. La versatilidad de este procedimiento favorece la extracción de material genético de cantidades diferentes de material inicial. La purificación es realizada en un solo tubo lo que reduce los desechos y disminuye el riesgo de mezclas. No se genera un impacto ambiental porque no se utilizan reactivos orgánicos tóxicos. Se añade el buffer de lisis a la muestra; los núcleos celulares y la mitocondria son atraídos mediante centrifugación; se suspende el pellet y se incuba en un buffer de desnaturalización el cual contiene sales caotrópticas y la proteasa Qiagen. Se precipita el ADN mediante la adición de isopropanol, se recupera mediante centrifugación, se realiza un lavado con etanol al 70%, se seca y resuspende en un buffer de hidratación (10 mM Tris.Cl, pH 8.5) (40).

Tipificación de haplogrupos mitocondriales

La determinación de haplogrupos mitocondriales se realizará mediante la amplificación por PCR de la región hipervariable I en el D-Loop mitocondrial. Se emplearán los primers L15840 (5'-ACTTCACAACAAATCCTAATCCT-3') y H164436 (5'-CGGAGCGAGGAGAGTAGCAC-3'). Los amplicones se enviarán a secuenciar bidireccionalmente usando la secuencia ABI-PRISM. Las secuencias son luego alineadas

usando el software CLC DNA Workbench 5.0 y comparadas con la secuencia de referencia de Cambridge. Los haplotipos se asignarán mediante el DnaSP 5.0 por identificación de polimorfismos diagnósticos y se corresponderán con el haplogrupo determinado.

Polimorfismos de HLA clase II

Con el fin de identificar la presencia de los alelos de la región HLA DRB1, se realizará una PCR-SSP (del inglés: Specific Sequence Primers, secuencia específica de primers). Con el Kit comercial Master Mix 100 de Promega, según las condiciones sugeridas por el proveedor. Para comprobar el resultado de la amplificación se revisarán los productos por electroforesis en gel de agarosa al 1%, teñido con Bromuro de Etidio 2 g/mL, a 90 voltios, por 30 minutos.

2.6.5. RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE DATOS

Antes de la intervención, se les entregará a los participantes un consentimiento informado con copia en donde se explica todo lo relacionado con el proyecto de investigación (ver Anexo 1). Una vez leído el consentimiento, resueltas las dudas y firmado el mismo, se procederá con el diligenciamiento de un cuestionario breve que incluye preguntas sobre la caracterización del participante y, en el caso de los participantes con diagnóstico de NMO, información sobre la enfermedad (ver Anexo 2). El mismo día de la intervención se realizará la toma de muestras para análisis del laboratorio y ejecución de las técnicas de biología molecular.

El formulario será desarrollado en la plataforma RED Cap de la Universidad de Vanderbilt, la cual cuenta con los permisos necesarios para la protección de los datos y la confidencialidad de los pacientes en proyectos de investigación clínica. Esta plataforma fue configurada por la Universidad de Los Andes, por lo que se requiere conexión a la red de esta universidad para su funcionamiento. La ventaja de esta plataforma digital es la tabulación automática de la información que es presentada como un formulario a los participantes, como también la síntesis de los resultados en tablas y gráficas que dan una idea de la estadística descriptiva de los datos que se recolectan. Los usuarios con acceso a la

información serán el Dr. Jaime Toro (j.toro; investigador principal) y el Dr. Jorge Patiño (je.patino; co-investigador).

Una vez conformada la base de datos en la plataforma REDCap, la información será trasladada al software STATA versión 13.0 para el posterior análisis de datos.

Inicialmente se describirá la población a estudio según las siguientes variables independientes contempladas:

1. Características demográficas:

- Edad
- Sexo
- Fecha de nacimiento
- Lugar de nacimiento
- Lugar de residencia

2. Antecedentes familiares:

- Lugar de nacimiento de los padres
- Lugar de nacimiento de los abuelos
- Lugar de nacimiento de los bisabuelos
- Antecedente familiar de EM o NMO

3. Características clínicas:

- Fecha de diagnóstico de la enfermedad
- Presencia de neuritis óptica, mielitis transversa o ambas
- Número de recaídas en los primeros 2 años siguientes al diagnóstico
- Número de recaídas en los últimos 2 años
- Tipo de tratamiento
- Fecha de inicio del tratamiento
- Cambio en el comportamiento de las recaídas desde el inicio del tratamiento
- Progreso de la enfermedad sin recaídas
- Puntaje en escala EDSS

2.6.6. ANÁLISIS DE DATOS

Se hará un análisis de frecuencia de los alelos presentes en la población a estudio y se estimarán diferencias entre cada grupo comparando las varianzas entre las distribuciones encontradas con el test de Chi-cuadrado o Fisher. Adicionalmente, se intentará dar una idea del componente étnico de los pacientes con NMO en términos de porcentaje para cada haplogrupo. Para determinar la asociación alelo-enfermedad se determinará la presencia del haplotipo y se determinará una razón de disparidades (Odds Ratio, OR) con un intervalo de confianza de 95%.

Se utilizará un modelo step wise del que harán parte las variables que hayan obtenido un valor de $p < 0.2$ para construir un modelo multivariado que tenga en cuenta posibles variables de confusión que puedan alterar el desenlace (NMO), dichas variables están derivadas de los cuestionarios demográficos de los pacientes, genética y niveles de IgG contra AQP4. Se utilizará un modelo logístico para el análisis de los datos obtenidos de las muestras.

Los resultados serán agrupados en tablas y se iniciará la escritura del manuscrito. Una vez terminada la redacción del mismo, será sujeto a la revisión por parte de todos los miembros del grupo de investigación y pares, con el fin de someterlo para publicación en una revista indexada especializada en enfermedades desmielinizantes y neurología.

2.6.7. CONTROL DE SESGOS

Teniendo en cuenta que se trata de un estudio de casos y controles se realizarán intervenciones con el fin de disminuir el impacto del sesgo de selección y de confusión. En cuanto al primero, cabe destacar que es uno de los principales en los estudios retrospectivos tipo casos y controles, con mayor frecuencia en la selección de los controles. Refiriéndonos al sesgo de confusión, debido a que no se trata de un estudio experimental es difícil que la muestra de casos tanto de controles sea homogénea. A pesar de que son errores importantes a tener en cuenta, utilizamos diferentes herramientas con el fin de disminuir la influencia antes mencionada por los mismos:

Con el fin de controlar el sesgo de selección los controles serán personas que asistan al Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, lo que demuestra la heterogeneidad de la población de los controles y por lo tanto una probabilidad de que la variabilidad genética tenga la misma distribución. Adicionalmente, la selección de los controles será aleatoria dentro de la muestra de personas que cumplan con los criterios de inclusión. Es importante mencionar que la inclusión en el estudio no está restringida a un segmento de la comunidad y el sujeto a estudio debe cumplir criterios de inclusión que probablemente no tengan impacto en el sesgo de selección relacionado al factor de estudio.

En cuanto al sesgo de confusión cabe resaltar que los controles serán personas con características demográficas similares a los casos, adicionalmente, se realizará un modelo multivariado que permitirá ajustar por diferentes variables como las que influyen en la aparición de NMO y permitirá determinar de manera más exacta la influencia o la asociación que tiene el HLA II en la aparición de la enfermedad.

2.6.8. VARIABLES

Tabla 2. Codificación de variables para el proyecto de investigación

Variable	Nombre	Descripción	Tipo	Codificación
Código	Id	Identificador del paciente	Continua discreta	-
Fecha de nacimiento	Nacimiento	Fecha de nacimiento del participante	Cualitativa ordinal	-
Edad	Edad	Edad del participante a la fecha de ingreso al estudio	Continua	-
Sexo	Sexo	Sexo del participante del estudio	Cualitativa nominal	0 = hombre 1 = mujer
Fecha de ingreso en el estudio	fecha_hoy	Fecha de ingreso del participante al estudio	Cualitativa ordinal	-
Lugar de nacimiento	nacimiento_lugar	Lugar de nacimiento del participante	Cualitativa nominal	-

Municipio de residencia	Residencia	Municipio de residencia del participante	Cualitativa nominal	-
Dirección	Dirección	Dirección de residencia del participante	Cualitativa nominal	-
Localidad	Localidad	Localidad de residencia del participante	Cualitativa nominal	-
Email	Email	Correo electrónico del participante	Cualitativa nominal	-
Teléfono fijo	tel_fijo	Teléfono fijo del participante	Cualitativa nominal	-
Teléfono celular	tel_celular	Teléfono celular del participante	Cualitativa nominal	-
Nombre contacto 1	nombre_1	Nombre del contacto 1	Cualitativa nominal	-
Parentesco contacto 1	parentesco_1	Parentesco del participante con el contacto 1	Cualitativa nominal	-
Dirección contacto 1	direccion_1	Dirección de residencia del contacto 1	Cualitativa nominal	-
Localidad contacto 1	localidad_1	Localidad de residencia del contacto 1	Cualitativa nominal	-
Email contacto 1	email_1	Correo electrónico del contacto 1	Cualitativa nominal	-
Lugar de nacimiento contacto 1	nacimiento_lugar_1	Lugar de nacimiento del contacto 1	Cualitativa nominal	-
Teléfono celular contacto 1	tel_celular_1	Teléfono celular del contacto 1	Cualitativa nominal	-
Nombre contacto 2	nombre_2	Nombre del contacto 2	Cualitativa nominal	-
Parentesco contacto 2	parentesco_2	Parentesco del participante con el contacto 2	Cualitativa nominal	-
Dirección contacto 2	direccion_2	Dirección de residencia del contacto 2	Cualitativa nominal	-
Localidad contacto 2	localidad_2	Localidad de residencia del contacto 2	Cualitativa nominal	-
Email contacto 2	email_2	Correo electrónico del contacto 2	Cualitativa nominal	-
Lugar de nacimiento contacto 2	nacimiento_lugar_2	Lugar de nacimiento del contacto 2	Cualitativa nominal	-

Teléfono celular contacto 2	tel_celular_2	Teléfono celular del contacto 2	Cualitativa nominal	-
Fecha de inicio de la enfermedad	enfermedad_inicio	Fecha de inicio de la sintomatología relacionada con la enfermedad	Cualitativa ordinal	-
Fecha de diagnóstico de la enfermedad	enfermedad_diagnostico	Fecha de establecimiento de diagnóstico de neuromielitis óptica	Cualitativa ordinal	-
Seropositividad IgG AQP4	aqp4_prev	Estado de seropositividad para anticuerpos IgG-AQP4 en suero previamente	Cualitativa nominal	0 = negativo 1 = positivo 2 = no medidos
Recaída actual	recaida_actual	Pregunta sobre si el paciente se encuentra actualmente en una recaída medida como actividad clínica mayor a 30 días luego de la última recaída o actividad en resonancia magnética	Cualitativa nominal	0 = no 1 = sí
Número de recaídas en los últimos 2 años	recaidas_2anos	Número de recaídas que ha presentado el paciente en los últimos dos años	Cuantitativa discreta	-
Presentación clínica de NMO	sintomas_nmo	Presentación clínica de la neuromielitis óptica definida como sintomatología de neuritis óptica, mielitis transversa o ambas	Cualitativa nominal	1 = neuritis óptica 2 = mielitis transversa 3 = neuritis óptica y mielitis transversa
Número de recaídas en los primeros 2 años	recaidas_2anos_diag	Número de recaídas que el paciente presentó durante los primeros 2 años desde el inicio de la enfermedad	Cuantitativa discreta	-

Comportamiento de la enfermedad luego del tratamiento	comportamiento_postto	Cambio en el comportamiento de la enfermedad luego del inicio del tratamiento	Cualitativa nominal	0 = no 1 = sí
Puntaje en la escala EDSS	Edss	Puntaje de discapacidad según la escala EDSS (Expanded Disability Score Scale)	Cuantitativa discreta	-
Tratamiento 1	tto1	Nombre del medicamento para el tratamiento 1	Cualitativa nominal	-
Año de inicio de tratamiento 1	inicio_tt1	Año de inicio del tratamiento 1	Cualitativa ordinal	-
Tratamiento 2	tto2	Nombre del medicamento para el tratamiento 2	Cualitativa nominal	-
Año de inicio de tratamiento 2	inicio_tto2	Año de inicio del tratamiento 2	Cualitativa ordinal	-
Tratamiento 3	tto3	Nombre del medicamento para el tratamiento 3	Cualitativa nominal	-
Año de inicio de tratamiento 3	inicio_tt3	Año de inicio del tratamiento 3	Cualitativa ordinal	-
Tratamiento actual	tto_hoy	Nombre del medicamento actual	Cualitativa nominal	-
Fecha de inicio del tratamiento actual	inicio_tto_hoy	Fecha de inicio del medicamento actual	Cualitativa ordinal	-
Seropositividad IgG AQP4 hoy	aqp4_hoy	Resultado de laboratorio de seropositividad de IgG-AQP4	Cualitativa ordinal	0 = negativo 1 = positivo
Polimorfismo HLA tipo II	Hla	Polimorfismo del haplotipo HLA tipo II	Cualitativa nominal	-

2.7. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tabla 3. Cronograma de actividades

Actividad	Meses											
	1 ^{er} periodo académico				2 ^{do} periodo académico				3 ^{er} periodo Académico			
	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20	21-22	23-24
1. Reclutamiento de pacientes y controles	X	X	X	X	X	X						
2. Estandarización de las técnicas moleculares	X	X	X									
3. Toma de muestras	X	X	X	X	X	X						
4. Análisis moleculares			X	X	X	X	X	X				
5. Digitación de la información en base de datos								X	X			
6. Análisis de datos									X	X		
7. Redacción del artículo y difusión de resultados										X	X	X

2. 8. RESULTADOS ESPERADOS

2.8.1. RELACIONADOS CON LA GENERACIÓN DE CONOCIMIENTO Y/O NUEVOS DESARROLLOS TECNOLÓGICOS

Como resultado de la ejecución de este proyecto de investigación, se derivará un manuscrito que cumpla con las especificaciones de Categoría A (artículo de revista indexada Q1 Scopus) debido a la complejidad del mismo. El tema de estudio en cuanto a la genética de enfermedades desmielinizantes es de gran importancia en la comunidad científica y neurológica, por lo que contribuirá al conocimiento de la enfermedad y al desarrollo de nuevos estudios y posibles terapias para mejorar la calidad de vida de los pacientes. La evaluación de la ancestría dentro de nuestro estudio también podría ser información importante que permita la generación de un producto de Categoría B (artículo de revista indexada Q2 Scopus).

Tabla 4. Generación de nuevo conocimiento	
Resultado/producto esperado	Número
Artículo de revista indexada Q1 Scopus	1
Artículo de revista indexada Q2 Scopus	1

2.8.2. CONDUCENTES A LA FORMACIÓN DE TALENTO HUMANO

La participación de estudiantes y profesionales de diferentes niveles de complejidad es vital para el desarrollo de nuestro protocolo de investigación. Los estudiantes de pregrado de la Universidad de Los Andes se han visto involucrados desde el nacimiento de la idea de investigación y su diseño, como también lo estarán en la ejecución del mismo, el análisis de la información y redacción del manuscrito final. Lo anterior, va alineado con los intereses de la Universidad de Los Andes y la Fundación Santa Fe de Bogotá en cuanto a la formación de talento humano capaz de generar conocimiento y transmitirlo de la mejor manera posible. Igualmente, tendremos estudiantes en el nivel de especialización médico-quirúrgica y en posgrados de ciencias que participarán en todo el proceso y adquirirán las competencias necesarias para replicar proyectos de esta y mayor envergadura en el futuro. Debido a que se

atienden los pacientes en la consulta social, este proyecto servirá para identificar a las personas con diagnóstico de neuromielitis óptica y generar discusión académica alrededor de esta patología.

Tabla 5. Formación de talento humano	
Resultado/producto esperado	Número
Fortalecimiento de las capacidades y habilidades investigativas de estudiantes de pregrado	2
Fortalecimiento de las capacidades y habilidades investigativas de estudiantes de posgrado	2
Fortalecimiento de liderazgo, delegación de funciones y trabajo en equipo	5
Fortalecimiento del vínculo académico interinstitucional entre la Universidad de Los Andes y la Fundación Santa Fe de Bogotá	1

2.8.3. DIRIGIDOS A LA DIVULGACIÓN DE LOS RESULTADOS ANTE LA COMUNIDAD CIENTÍFICA O LA SOCIEDAD

Los resultados obtenidos luego del análisis de la información obtenida durante la ejecución del estudio, serán presentados en el congreso de la Academia Americana de Neurología en el año 2022, como también en el Congreso Nacional de la Asociación Colombiana de Neurología y el Congreso de Residentes de Neurología. Igualmente, se presentarán los resultados y se abrirá una discusión al respecto en el XIV Encuentro para Pacientes con Esclerosis Múltiple en el año 2022, con el fin de promover el conocimiento sobre la enfermedad en nuestros pacientes y brindarles educación al respecto.

Tabla 6. Divulgación de los resultados ante la comunidad científica o la sociedad	
Resultado/producto esperado	Número
Presentación de póster en el congreso de la Academia Americana de Neurología	1

Presentación de póster en el congreso de la Asociación Colombia de Neurología	1
Presentación de póster en el Congreso de Residentes de Neurología	1
Ponencia en el Congreso de Residentes de Neurología	1
Presentación de resultados y educación para pacientes y familiares en el XIV Encuentro para Pacientes con Esclerosis Múltiple	1

2.9. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio ha sido diseñado de conformidad a lo establecido en la Resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud “Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la Investigación en Salud” para investigación en seres humanos. Tiene en cuenta los principios de dignidad humana, protección de los derechos y bienestar de los participantes. De acuerdo con las especificaciones en el artículo 11 de la resolución, este estudio se considera una investigación con riesgo mínimo. Por lo anterior, y de acuerdo con el Artículo 16 párrafo primero de la resolución en cuestión, a cada participante se le entregará un consentimiento informado con copia antes de la intervención. El proyecto fue aprobado por el Comité Corporativo de Ética en Investigación de la FSFB del 27 de abril del 2020, sesión CCEI-12039-2020 (revisar anexo 6).

2.10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ajmera MR, Boscoe A, Mauskopf J, Candrilli SD, Levy M. Evaluation of comorbidities and health care resource use among patients with highly active neuromyelitis optica. *J Neurol Sci* 2018 Jan 15;;384:96-103.
2. Katz Sand I. Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders. *Continuum (Minneap Minn)* 2016 06;22(3):864-896.
3. Brum DG, Barreira AA, dos Santos AC, Kaimen-Maciél DR, Matiello M, Costa RM, et al. HLA-DRB association in neuromyelitis optica is different from that observed in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010 Jan;16(1):21-29.
4. Deschamps R, Paturel L, Jeannin S, Chaussou N, Olindo S, Béra O, et al. Different HLA class II (DRB1 and DQB1) alleles determine either susceptibility or resistance to NMO and multiple sclerosis among the French Afro-Caribbean population. *Mult Scler* 2011 January 1;;17(1):24-31.
5. Zéphir H, Fajardy I, Outteryck O, Blanc F, Roger N, Fleury M, et al. Is neuromyelitis optica associated with human leukocyte antigen? *Mult Scler* 2009 May;15(5):571-579.
6. Pandit L. Neuromyelitis optica spectrum disorders: An update. *Annals of Indian Academy of Neurology* 2015 9/1;18(5):11.
7. Waters PJ, McKeon A, Leite MI, Rajasekharan S, Lennon VA, Villalobos A, et al. Serologic diagnosis of NMO: a multicenter comparison of aquaporin-4-IgG assays. *Neurology* 2012 Feb 28;;78(9):665-671; discussion 669.
8. Ministerio de Salud de Colombia (2015). Metodología para la identificación, selección y ordenamiento para evaluación de ayudas diagnósticas para enfermedades de baja prevalencia (huérfanas, raras), y resultados de su aplicación. Recuperado el día 17 de julio de 2017, de: <https://www.minsalud.gov.co/salud/POS/Documents/METODOLOGIA-HUERFANAS-2015.pdf>
9. Rosselli, D., Castañeda, C., Ruíz, R., de la Hoz, A., Quitián, H., Acosta, A. et al (2014). Análisis de impacto presupuestal de anticuerpos anti-NMO (acuaporina 4) para el diagnóstico de la enfermedad de Devic o neuromielitis óptica para la población mayor de 18 años en Colombia. Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud.
10. Jarius S, Wildemann B, Paul F. Neuromyelitis optica: clinical features, immunopathogenesis and treatment. *Clin Exp Immunol* 2014 -5;176(2):149-164.
11. Trebst C, Jarius S, Berthele A, Paul F, Schippling S, Wildemann B, et al. Update on the diagnosis and treatment of neuromyelitis optica: recommendations of the Neuromyelitis Optica Study Group (NEMOS). *J Neurol* 2014 Jan;261(1):1-16.
12. Jarius S, Paul F, Weinshenker BG, Levy M, Kim HJ, Wildemann B. Neuromyelitis optica. *Nat Rev Dis Primers* 2020 10 22;;6(1):85.

13. Gontika MP, Anagnostouli MC. Human leukocyte antigens-immunogenetics of neuromyelitis optica or Devic's disease and the impact on the immunopathogenesis, diagnosis and treatment: a critical review. *Neuroimmunology and Neuroinflammation* 2014 /08/28;1:44-50.
14. Awad A, Stüve O. Idiopathic transverse myelitis and neuromyelitis optica: clinical profiles, pathophysiology and therapeutic choices. *Curr Neuroparmacol* 2011 Sep;9(3):417-428.
15. Mori M, Kuwabara S, Paul F. Worldwide prevalence of neuromyelitis optica spectrum disorders. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018 06;89(6):555-556.
16. Miyamoto K, Fujihara K, Kira J, Kuriyama N, Matsui M, Tamakoshi A, et al. Nationwide epidemiological study of neuromyelitis optica in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2018 06;89(6):667-668.
17. Cabre P, Heinzlef O, Merle H, Buisson GG, Bera O, Bellance R, et al. MS and neuromyelitis optica in Martinique (French West Indies). *Neurology* 2001 Feb 27;56(4):507-514.
18. Bukhari W, Prain KM, Waters P, Woodhall M, O'Gorman CM, Clarke L, et al. Incidence and prevalence of NMOSD in Australia and New Zealand. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2017 08;88(8):632-638.
19. Bruscolini A, Sacchetti M, La Cava M, Gharbiya M, Ralli M, Lambiase A, et al. Diagnosis and management of neuromyelitis optica spectrum disorders - An update. *Autoimmun Rev* 2018 Mar;17(3):195-200.
20. Lucchinetti CF, Guo Y, Popescu BFG, Fujihara K, Itoyama Y, Misu T. The pathology of an autoimmune astrocytopathy: lessons learned from neuromyelitis optica. *Brain Pathol* 2014 Jan;24(1):83-97.
21. Wingerchuk DM, Lennon VA, Lucchinetti CF, Pittock SJ, Weinshenker BG. The spectrum of neuromyelitis optica. *Lancet Neurol* 2007 Sep;6(9):805-815.
22. Qian P, Lancia S, Alvarez E, Klawiter EC, Cross AH, Naismith RT. Association of neuromyelitis optica with severe and intractable pain. *Arch Neurol* 2012 Nov;69(11):1482-1487.
23. Wingerchuk DM, Hogancamp WF, O'Brien PC, Weinshenker BG. The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology* 1999 Sep 22;53(5):1107-1114.
24. Wingerchuk DM, Banwell B, Bennett JL, Cabre P, Carroll W, Chitnis T, et al. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders. *Neurology* 2015 -7-14;85(2):177-189.
25. Kim HJ, Paul F, Lana-Peixoto MA, Tenenbaum S, Asgari N, Palace J, et al. MRI characteristics of neuromyelitis optica spectrum disorder: an international update. *Neurology* 2015 Mar 17;84(11):1165-1173.

26. Papadopoulos MC, Bennett JL, Verkman AS. Treatment of neuromyelitis optica: state-of-the-art and emerging therapies. *Nat Rev Neurol* 2014 Sep;10(9):493-506.
27. Melamed E, Levy M, Waters PJ, Sato DK, Bennett JL, John GR, et al. Update on biomarkers in neuromyelitis optica. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2015 Aug;2(4):e134.
28. Pittock SJ, Berthele A, Fujihara K, Kim HJ, Levy M, Palace J, et al. Eculizumab in Aquaporin-4-Positive Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder. *New England Journal of Medicine* 2019 August 15;381(7):614-625.
29. Yamamura T, Kleiter I, Fujihara K, Palace J, Greenberg B, Zakrzewska-Pniewska B, et al. Trial of Satralizumab in Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder. *New England Journal of Medicine* 2019 November 28;381(22):2114-2124.
30. Traboulsee A, Greenberg BM, Bennett JL, Szczechowski L, Fox E, Shkrobot S, et al. Safety and efficacy of satralizumab monotherapy in neuromyelitis optica spectrum disorder: a randomised, double-blind, multicentre, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Neurol* 2020 05;19(5):402-412.
31. Cree BAC, Bennett JL, Kim HJ, Weinshenker BG, Pittock SJ, Wingerchuk DM, et al. Inebilizumab for the treatment of neuromyelitis optica spectrum disorder (N-MOMentum): a double-blind, randomised placebo-controlled phase 2/3 trial. *Lancet* 2019 10 12;394(10206):1352-1363.
32. Choo SY. The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications. *Yonsei Med J* 2007 -2-28;48(1):11-23.
33. Klein J, Sato A. The HLA System. *New England Journal of Medicine* 2000 September 7;343(10):702-709.
34. Kindt T, Goldsby R, Osborne B. *Kuby immunology*. New York: W.H. Freeman and Company; 2007
35. López-Martínez A, Chavez- Munoz C, Granados J. Función biológica del complejo principal de histocompatibilidad. *Revista de investigación clínica* 2005 January 1;57(2):132-141.
36. Wang H, Dai Y, Qiu W, Zhong X, Wu A, Wang Y, et al. HLA-DPB1 0501 is associated with susceptibility to anti-aquaporin-4 antibodies positive neuromyelitis optica in southern Han Chinese. *J Neuroimmunol* 2011 Apr;233(1-2):181-184.
37. Matsushita T, Matsuoka T, Isobe N, Kawano Y, Minohara M, Shi N, et al. Association of the HLA-DPB1*0501 allele with anti-aquaporin-4 antibody positivity in Japanese patients with idiopathic central nervous system demyelinating disorders. *Tissue Antigens* 2009 Feb;73(2):171-176.
38. Yamasaki K, Horiuchi I, Minohara M, Kawano Y, Ohyagi Y, Yamada T, et al. HLA-DPB1*0501-associated optico-spinal multiple sclerosis: clinical, neuroimaging and immunogenetic studies. *Brain* 1999 Sep;122 (Pt 9):1689-1696.

39. Iyer A, Elson L, Appleton R, Jacob A. A review of the current literature and a guide to the early diagnosis of autoimmune disorders associated with neuromyelitis optica. *Autoimmunity* 2014 May;47(3):154-161.
40. FlexiGene (2014). DNA Handbook. Recuperado el día 20 de octubre de 2020, de <https://www.qiagen.com/cn/resources/resourcedetail?id=6b147421-7846-411e-9993-bb01563b807e&lang=en>

3. PRESUPUESTO

Tabla 7. Presupuesto global de la propuesta por fuentes de financiación (en pesos)

Rubro	Presupuesto Solicitado	Aportes de Contrapartida				Total
		FSFB	Universidad de Los Andes		Universidad El Bosque	
		Departamento de Neurología	Facultad de Medicina	Facultad de Ciencias		
Personal	\$24,218,502.00	\$32,000,000.00	\$0.00	\$16,078,000.00	\$0.00	\$24,218,502.00
Equipos	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00
Equipos de uso propio	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$1,255,950.00	\$0.00	\$0.00
Software	\$0.00	\$0.00	\$2,557,015.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00
Materiales	\$34,965,259.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$44,616,706.00	\$34,965,259.00
Salidas de campo	NA	NA	NA	NA	NA	\$0.00
Material bibliográfico	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00
Publicaciones y patentes	\$9,168,295.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$245,520.00	\$9,168,295.00
Servicios técnicos	NA	NA	NA	NA	NA	\$0.00
Viajes	\$3,422,246.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$3,422,246.00
Total						\$71,774,302.00

Tabla 8. Descripción de los gastos de personal (en pesos)

Investigador	Formación académica	Función dentro del proyecto	Dedicación horas/semana	Recursos					Total
				Presupuesto solicitado	Contrapartida				
					FSFB	Unianandes	Otras fuentes		
Jaime Toro	MD, FAAN, FACP	Dirección y coordinación, diseño del estudio	10	\$0.00	\$20,000,000.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	
Helena Groot de Restrepo	MSc	Dirección y coordinación, diseño del estudio	10	\$0.00	\$0.00	\$16,078,000.00	\$0.00	\$0.00	
Jorge Patiño	MD	Ejecución y desarrollo del proyecto	40	\$0.00	\$12,000,000.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	
María Isabel Reyes	MD	Ejecución y desarrollo del proyecto	10	\$3,906,210.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$3,906,210.00	
Saúl Reyes	MD	Ejecución y desarrollo del proyecto	10	\$3,906,210.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$3,906,210.00	
Camilo Díaz	MD	Ejecución y desarrollo del proyecto	10	\$3,906,210.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$3,906,210.00	
Diana Narváez	MSc	Ejecución y desarrollo del proyecto	10	\$6,249,936.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$6,249,936.00	
Fabián Cortés	Msc	Análisis estadístico y asesoría	4	\$6,249,936.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$6,249,936.00	
Jorge Ríos		Ejecución y desarrollo del proyecto	20	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	
Camilo Torres		Ejecución y desarrollo del proyecto	20	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	
Total				\$24,218,502.00	\$32,000,000.00	\$16,078,000.00	\$0.00	\$24,218,502.00	

Tabla 9. Descripción de los equipos que se planean adquirir (en pesos)

Equipo	Justificación	Recursos				Total
		Presupuesto solicitado	Contrapartida			
			FSFB	Unianandes	Otras fuentes	
Los equipos fueron adquiridos con financiación de la contrapartida.						
Ver pestaña de equipos propios.						
Total					0	

Tabla 10. Descripción y cuantificación de los equipos de uso propio (en pesos)

Equipo de uso propio	Justificación	Recurso			Total
		Contrapartida			
		FSFB	Uniandes	Otras fuentes	
Computador PC Dell	Almacenamiento datos y producción del artículo.		\$250,000.00		\$0.00
Fotodocumentador	Registro de resultados.		\$235,600.00		\$0.00
Cámara de electroforesis	Procedimiento biología molecular.		\$74,400.00		\$0.00
Fuente de poder	Procedimiento biología molecular.		\$16,120.00		\$0.00
Termociclador (PCR)	Procedimiento biología molecular.		\$99,200.00		\$0.00
Cámara de flujo	Procedimiento biología molecular.		\$198,400.00		\$0.00
Nevera -20°C	Almacenamiento de muestras.		\$37,200.00		\$0.00
Ultracongelador (- 80°C)	Almacenamiento de muestras.		\$235,600.00		\$0.00
Balanza electrónica	Procedimiento biología molecular.		\$8,680.00		\$0.00
Micro centrífuga	Procedimiento biología molecular.		\$65,720.00		\$0.00
Horno microondas	Procedimiento biología molecular.		\$4,030.00		\$0.00
Vortex	Procedimiento biología molecular.		\$12,400.00		\$0.00
Micropipetas (10/100/1000)	Procedimiento biología molecular.		\$18,600.00		\$0.00
Total			\$1,255,950.00		\$0.00

Tabla 11. Descripción del software que se planea adquirir (en pesos)

Software	Justificación	Recursos				Total
		Presupuesto solicitado	Contrapartida			
			FSFB	Uniandes	Otras fuentes	
STATA v 13.0	Creación de base de datos y análisis de la información			\$2,557,015.00		\$0.00
Total				\$2,557,015.00		\$0.00

Tabla 12. Descripción y justificación de los viajes (en pesos)

Descripción del viaje	Justificación	Recursos				Total
		Presupuesto solicitado	Contrapartida			
			FSFB	Uniandes	Otras fuentes	
Congreso de la Asociación Americana de Neurología 2018	Presentación de póster, socialización del proyecto con pares y contribución al diseño y desarrollo del mismo	\$3,422,246.00	\$0.00	\$0.00	\$0.00	\$3,422,246.00
Total						\$3,422,246.00

Tabla 13. Materiales y suministros (en pesos)

Descripción	Justificación	Recursos			Total
		Presupuesto solicitado	Contrapartida		
			FSFB	Uniandes	
Aguja Múltiple adulto marca VACUTAINER estéril y desechable caja x 100 unidades	Toma de muestras de sangre	\$0.00		\$148,800.00	\$0.00
Tubo tapa Lila marca VACUTAINER caja x 100 unidades	Extracción de muestras de sangre al vacío	\$0.00		\$148,800.00	\$0.00
DNA Kit Flexigen para 212 muestras	Extracción de ADN a partir de las muestras de sangre	\$8,965,259.00		\$2,114,448.00	\$8,965,259.00
Puntas tranparentes ART-200 con filtro de 1-200ul en Rack X 960 Puntas	Traslado de material biológico (ADN) con precisión	\$0.00		\$863,040.00	\$0.00
Agarosa Ultra Pura Marca INVITROGEN X 500 Gr	Análisis de rutina de ácidos nucleicos	\$0.00		\$1,726,080.00	\$0.00
Taq DNA polimerasa recombinante marca INVITROGEN X 500 Und	Amplificación de muestras de ADN en el PCR	\$0.00		\$781,200.00	\$0.00
Marcador DNA Ladder Marca INVITROGEN X 50ug	Determinación del tamaño y cuantificación de fragmentos de ADN en la amplificación por PCR	\$0.00		\$431,520.00	\$0.00
Kit BIOTEST DRB SSP para análisis de 24 muestras	Amplificación de las regiones específicas para el haplotipo HLA-DRB03	\$10,000,000.00		\$10,088,000.00	\$10,000,000.00
Genotipificación de marcadores autosómicos de ancestría en el laboratorio IPATIMUP Diagnósticos	Determinación de marcadores autosómicos de ancestría.	\$10,000,000.00		\$13,783,820.00	\$10,000,000.00
Secuenciación de D-loop mitocondrial (envío de material genético para procesamiento en Corea)	Determinación del haplotipo mitocondrial	\$3,000,000.00		\$6,353,568.00	\$3,000,000.00
Kit para medición de IgG-AQP4 por CBA	Determinación de seropositividad en NMO	\$3,000,000.00		\$5,730,478.00	\$3,000,000.00
DNA N, anticuerpos por IFI	Determinación de seropositividad en NMO	\$0.00		\$2,446,952.00	\$0.00
		\$34,965,259.00		\$44,616,706.00	\$34,965,259.00

Tabla 14. Publicaciones y patentes (en pesos)

Publicaciones y Patentes	Presupuesto Solicitado	Contrapartida			Total
		FSFB	Uniandes	Universidad El Bosque	
Publicación de artículo en la revista Neurology: Neuroimmunology & Neuroinflammation Open Access	\$9,413,815.00	\$0.00	\$0.00	\$245,520.00	\$9,168,295.00
TOTAL					\$9,168,295.00

4. ANEXOS

ANEXO 1: Escala ampliada de discapacidad de Kurtzke

Tabla 15. Escala ampliada de discapacidad de Kurtzke

0.0	Examen Neurológico Normal (0 en Escala Funcional EF)
1.0	Sin discapacidad, signos clínicos mínimos en una EF
1.5	Sin discapacidad, signos mínimos en más de una EF
2.0	Discapacidad mínima en una EF
2.5	Discapacidad mínima en 2 EF
3.0	Moderada discapacidad en una EF
3.5	Puede deambular pero con moderada discapacidad en una EF
4.0	Puede deambular sin ayuda o reposo $\geq 500\text{m}$
4.5	Puede deambular sin ayuda o reposo $\geq 300\text{m}$
5.0	Puede deambular sin ayuda o reposo $\geq 200\text{m}$
5.5	Puede deambular sin ayuda o reposo $\geq 100\text{m}$
6.0	Requiere asistencia unilateral para caminar 100 m con o sin reposo
6.5	Requiere asistencia bilateral constante para caminar 20 m sin reposo
7.0	No es capaz de caminar 5 metros sin ayuda; restringido a silla de ruedas; se moviliza solo
7.5	No es capaz de caminar unos pocos pasos; restringido a silla de ruedas; requiere ayuda a moverse

8.0	Restringido a cama o silla de ruedas aunque no la mayor parte del día, capaz de autocuidado, moviliza miembros superiores
8.5	Restringido a cama la mayor parte del día, conserva algunas funciones de autocuidado, conserva algún uso de miembros superiores
9.0	Paciente en cama; puede comunicarse y comer
9.5	Paciente en cama sin capacidad de ayudarse; no puede comer ni comunicarse
10.0	Muerte por esclerosis múltiple

EF: Escala Funcional. Los sistemas funcionales son: piramidal, cerebeloso, tallo cerebral, sensibilidad, vejiga e intestino, visión y funciones mentales

ANEXO 2: “Quality of life short form 36”

Tabla 16. Quality of Life Short Form 36

I. En general, usted diría que su salud es:							
1	Excelente						
2	Muy buena						
3	Buena						
4	Suficiente						
5	Pobre						
II. Comparado con el año anterior, ¿cómo calificaría su salud ahora?							
1	Mucho mejor que hace un año						
2	Un poco mejor que hace un año						
3	Igual						
4	Un poco peor que hace un año						
5	Mucho peor que hace un año						

Los siguientes ítems están relacionados con actividades que puede hacer en un día usual. ¿Su salud actual limita estas actividades? Si la respuesta es sí, ¿qué tanto las limita?						
	Sí, me limita mucho	Sí, limitada un poco	No me limita			
III. Actividades vigorosas como correr, cargar objetos pesados, participar en deportes extenuantes						
IV. Actividades moderadas como mover una mesa, usar una aspiradora, jugar bolos o golf						
V. Levantar o llevar el mercado						
VI. Subir muchos escalones						
VII. Subir un escalón						
VIII. Agacharse, arrodillarse o pararse						
IX. Caminar más de una milla						
X. Caminar algunas cuadras						
XI. Caminar una cuadra						
XII. Bañarse o vestirse solo						
Durante las últimas 4 semanas, ¿ha tenido alguno de los siguientes problemas en su trabajo o vida diaria como resultado de su salud física?						
	Sí	No				
XIII. Disminuir el tiempo que gasta en trabajo u otras actividades						
XIV. Lograr menos de lo que quisiera						
XV. Limitaciones en el tipo de trabajo u otras actividades						
XVI. Dificultad para realizar el trabajo u otras actividades (por ejemplo, le tomó esfuerzo extra)						

Durante las últimas 4 semanas, ¿ha tenido alguno de los siguientes problemas en su trabajo o vida diaria como resultado de su salud emocional?							
		Sí	No				
XVII. Disminuir el tiempo que gasta en trabajo u otras actividades							
XVIII. Lograr menos de lo que quisiera							
XIX. No realizar el trabajo u otras actividades con el cuidado usual							
XX. Durante las últimas 4 semanas, ¿en qué grado su salud física o emocional interfirió con sus actividades sociales normales con la familia, amigos, vecinos o grupos?							
1	Nada						
2	Muy poco						
3	Moderadamente						
4	Suficiente						
5	Extremadamente						
XXI. ¿Qué tanto dolor corporal ha tenido en las últimas 4 semanas?							
1	Nada						
2	Muy leve						
3	Leve						
4	Moderado						
5	Severo						
6	Muy severo						
XXII. Durante las últimas 4 semanas, ¿qué tanto interfirió el dolor con su trabajo normal (tanto afuera como en casa)?							
1	Nada						
2	Muy poco						
3	Moderadamente						
4	Suficiente						

5	Extremadamente						
Las siguientes preguntas son sobre cómo se ha sentido en las últimas 4 semanas. De una respuesta para cada pregunta. ¿Qué tanto tiempo en las últimas semanas?							
		Todo el tiempo	La mayoría del tiempo	Un buen período de tiempo	Algo de tiempo	Muy poco tiempo	En ningún momento
XXIII.	Se sintió lleno de vitalidad?						
XXIV.	Fue una persona nerviosa?						
XXV.	Se sintió tan decaído que nada podía animarlo?						
XXVI.	Se sintió calmado y pacífico?						
XXVII.	Tuvo mucha energía?						
XXVIII.	Se sintió triste y nostálgico?						
XIX.	Se sintió agotado?						
XXX.	Fue una persona feliz?						
XXXI.	Se sintió cansado?						
XXXII. Durante las últimas 4 semanas, ¿qué tanto tiempo su salud física o emocional interfirió con actividades sociales (como visitar amigos, parientes, etc)?							
1	Todo el tiempo						
2	La mayoría del tiempo						
3	Algo de tiempo						
4	Un poco de tiempo						
5	En ningún momento						
¿Qué tan verdaderos o falsos son los siguientes enunciados para usted?							
		Definitivamente cierto	Cierto en su mayoría	No sé	Falso en su mayoría	Definitivamente falso	

XXXI. Me enfermo más fácil que los demás						
XXXI. Son tan saludable como cualquier persona que conozca						
XXXI. Espero que mi salud empeore						
XXXI. Mi salud es excelente						

ANEXO 3: Medicamentos usados en NMO

Tabla 17. Medicamentos usados para NMO en adultos

Tratamiento	Dosis Típica	Mecanismo de Acción
<i>Para exacerbación aguda</i>		
Metilprednisolona	1 g cada día, por 3-5 días	Múltiple
Plasmaféresis	5-7 ciclos	Depleción de IgG-AQP4 y citoquinas
IgG IV	0.7g/kg por 3 días; período de tratamiento 8 semanas	Múltiple
Ciclofosfamida	2 g día for 4 días	Inhibe mitosis
<i>Reducción de tasa de recaídas</i>		
Prednisolona	2–20 mg día	Múltiple
Rituximab	Por ejemplo, 1 g at day 1 and day 14, repetir cada 6 meses (opcional: monitoreo de conteo CD19)	Anti-CD20, depleción de linfocitos B
Plasmaféresis	Inmunosupresión	Depleción de IgG-AQP4 y citoquinas
Ciclofosfamida	2 g día for 4 días	Inhibe mitosis
Azatioprina	2.5–3.0 mg/kg día	Bloquea la síntesis de adenina y guanina
Micofenolato	750–3000 mg día	Inhibe a la inosina monofosfato deshidrogenasa, principalmente la isoforma tipo II encontrada en linfocitos T y B
Mitoxantrone	Inicio con 12 mg/m ² mensual por 3-6 meses, mantenimiento con 6–12 mg/m ² cada 3 meses; dosis acumulada máxima de 120 mg/m ²	Intercala el ADN, inhibe la mitosis
Metotrexate	7.5–25 mg una vez cada semana	Antagonista de ácido fólico
Ciclosporina	2–5 mg/kg día	Inhibe linfocitos T
<i>Anticuerpos monoclonales</i>		

Eculizumab	Inicio con 900mg semanales por las primeras 4 dosis y luego 1200 mg cada 2 semanas.	Inhibición del clivaje de C5
Satralizumab	Inicio con 120 mg las semanas: 0,2 y 4. Luego 120 mg cada 4 semanas.	Anti interleuquina 6
Inebilizumab	Inicio con 300 mg la primera dosis y dos semanas después otros 300 mg. A los 6 meses de la primera infusión continuar con 300 mg cada 6 meses.	Depletor de células CD19
<i>Peligroso en NMO o información insuficiente</i>		
IFN-β	NA	Peligroso en NMO
Fingolimod	NA	Puede ser peligroso en NMO (información insuficiente)
Natalizumab	NA	Puede ser peligroso en NMO (información insuficiente)
Abreviaciones: AQP4, aquaporina-4; CD20, antígeno linfocitario B CD20; NA, no aplica; NMO, neuromielitis óptica.		

Adaptado de Papadopoulos et al, 2014. Treatment of neuromyelitis optica: state-of-the-art and emerging therapies. *Nat Rev Neurol*, doi:10.1038/nrneurol.2014.141

ANEXO 4: Consentimiento Informado para casos

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN LA FUNDACIÓN SANTA FE DE BOGOTÁ

TÍTULO DEL ESTUDIO: Caracterización de los alelos del HLA clase II en pacientes con Neuromielitis Óptica de Bogotá, Colombia

PATROCINADOR: Universidad El Bosque

DIRECCIÓN DEL PATROCINADOR: Av.Cra 9 No.131 A- 02.

NOMBRE DEL INVESTIGADOR: Jaime Toro Gomez, MD FAAN FACP.

DIRECCIÓN Y TELÉFONO DEL INVESTIGADOR: Avenida 9 No. 116 - 20, Consultorio 409. Celular: 3153338839

SITIO DE INVESTIGACIÓN: Fundación Santa Fe de Bogotá

DIRECCIÓN DEL SITIO DE INVESTIGACIÓN: Carrera 7 No. 117 - 15.

La Fundación Santa Fe de Bogotá y el Departamento de Neurología lo están invitando a participar, como voluntario, en un protocolo de investigación para determinar si existe algún componente genético que pudiera estar influenciando la aparición de la neuromielitis óptica en los pacientes colombianos.

Este documento de Consentimiento Informado, le proporcionará la información necesaria para ayudarle a decidir sobre su participación en el estudio. Por favor, lea atentamente la información. Si cualquier parte de este documento no le resulta clara, si tiene alguna pregunta o desea solicitar información adicional, no dude en pedirla a cualquiera de los miembros del equipo de estudio, los cuales se mencionan al final de este documento.

1. NATURALEZA Y PROPÓSITO DEL ESTUDIO: El grupo de Investigación de Esclerosis Múltiple de la Fundación Santa Fe de Bogotá está interesado en estudiar si existe algún componente genético que pudiera estar influenciando el desarrollo de neuromielitis óptica y compararlo con las personas que no tienen la enfermedad. Para llevar a cabo este objetivo, se estudiará un fragmento de información genética de las personas con neuromielitis óptica y las personas sin la enfermedad para determinar si hay alguna diferencia. A todos los individuos participantes les tomaremos una muestra de 10 mL (una cucharadita) de sangre de la vena del brazo izquierdo. Esta muestra servirá para estudiar la parte genética y, en las personas con la enfermedad, medir los niveles de anticuerpos contra la aquaporina-4, la cual es una proteína que el sistema de defensa de

los pacientes con neuromielitis óptica ataca con mucha frecuencia. Finalmente, se entregará una encuesta para diligenciar, en la que se incluyen datos personales y preguntas propias de su enfermedad. La encuesta se diligenciará en los consultorios para investigación del Centro de Estudios e Investigación en Salud de la Fundación Santa Fe de Bogotá.

2. **TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS VENTAJOSOS PARA EL SUJETO:** dado que no se está ofreciendo un nuevo tratamiento, no hay un tratamiento alternativo. Sin embargo, usted es libre de no participar en el estudio.
3. **DURACIÓN ESPERADA DEL ESTUDIO Y NÚMERO DE SUJETOS PARTICIPANTES:** se espera tener resultados del estudio 1 año después de que sea iniciado. Se espera contar con, por lo menos, 100 participantes.
4. **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO:** a todos los individuos participantes les tomaremos una muestra de 10 mL (una cucharadita) de sangre de la vena del brazo izquierdo. Esta muestra servirá para estudiar la genética y, en el caso de los pacientes con neuromielitis óptica, los anticuerpos relacionados con la enfermedad descritos en el numeral 1 de este consentimiento. La muestra se tomará en el Laboratorio Clínico de la Fundación Santa Fe de Bogotá, en el área designada para venopunción.
5. **MANEJO DE MUESTRAS DE LABORATORIOS OBTENIDAS:** la muestra se codificará para proteger su anonimidad mediante el sistema del Laboratorio Clínico de la Fundación Santa Fe de Bogotá. Este sistema asigna un código único para cada muestra y será registrado en la base de datos del estudio. Solamente el investigador principal y el co-investigador principal tienen acceso a esta base de datos. Tras la toma de la muestra, esta será embalada y enviada al Laboratorio de Genética Humana de la Universidad de Los Andes manteniendo la cadena de custodia. Ahí será almacenada, únicamente los miembros del Laboratorio de Genética Humana investigadores del proyecto tendrán acceso a su muestra. Esta muestra no tiene ningún valor comercial y no será utilizada para ningún otro estudio sin su consentimiento. La muestra será guardada por un plazo mínimo de tres meses, hasta obtener y registrar los resultados del análisis genético. Tras esto, será desecheda.
6. **RIESGOS Y BENEFICIOS:** Esta investigación se considera de riesgo mínimo, ya que la toma de muestras de sangre no representa ningún riesgo para su integridad física, siendo el único efecto colateral probable un leve dolor en el sitio de la venopunción y en ocasiones una equimosis (morado) o inflamación. Los datos que se diligencien en la encuesta no serán divulgados sin su consentimiento. Las pruebas de laboratorio que le serán realizadas no tendrán ningún costo, ni usted ni su familia tendrán que pagar por ellas. Además, durante el evento de recolección de sangre y el diligenciamiento de la encuesta, se dará una charla informativa por parte de un experto en el tema para que usted pueda conocer más acerca de su enfermedad y aclarar dudas.
7. **¿QUE MÁS NECESITA SABER ANTES DE DECIDIR PARTICIPAR EN EL ESTUDIO?:** Usted recibirá una copia de este formato de Consentimiento Informado, consérvela en un lugar seguro y utilícela como información y referencia durante todo el

desarrollo del estudio. Esta investigación se llevará a cabo de acuerdo con la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud. Este documento fue revisado y aprobado por el Comité Corporativo de Ética en Investigación y cumple con todos los requerimientos metodológicos y éticos para ser desarrollado. Para garantizar la protección sus derechos y seguridad, éste estudio fue revisado y aprobado por el Comité de investigación y Ética de la Fundación Santa Fe de Bogotá, la Universidad de Los Andes y la Universidad El Bosque.

- a. Usted tiene derecho a conocer los resultados de las pruebas que se realicen, por lo que estos serán enviados a la dirección de correo electrónico suministrada en la información de contacto una vez estén disponibles. De la misma forma, usted los podrá consultar comunicándose directamente con el Doctor Jaime Toro al teléfono 2150169 en la ciudad de Bogotá o con el Doctor Daniel Noriega al teléfono 3132528929 en la ciudad de Bogotá.
- 8. PUEDEN EXISTIR RAZONES POR LAS CUALES USTED NO PUEDA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO:** si usted es menor de edad o padece de alguna enfermedad diferente de neuromielitis óptica podría no ser candidato para este estudio.
- 9. COMPENSACIÓN:** No habrá ninguna compensación por su participación en este estudio. El investigador recibirá compensación económica por la investigación realizada.
- 10. CUBRIMIENTO DE EVENTOS ADVERSOS:** El investigador del estudio no espera que usted sufra algún problema de salud por participar en este estudio. No obstante, si como resultado directo de su participación en este estudio usted presenta alguna complicación relacionada con la investigación, la institución cubrirá los costos de su tratamiento médico y para ello cuenta con una póliza de seguros. Las limitaciones de esta compensación serán las de la legislación vigente
- 11. ¿QUÉ OCURRIRÁ SI DECIDE NO PARTICIPAR O SI CAMBIA DE IDEA DESPUÉS DE HABER ACEPTADO?:** la participación en este estudio es totalmente voluntaria, usted no está obligado a participar, puede retirarse en cualquier momento sin justificar su decisión, sin sufrir ninguna sanción o detrimento en la atención por parte de su médico ni de la institución.
- 12. CONFIDENCIALIDAD:** el investigador asegurará que no se identificará al sujeto, se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad, utilizando códigos hasta donde las leyes y regulaciones lo permitan y no serán accesibles públicamente. Los datos obtenidos podrán ser consultados por el patrocinador, autoridades sanitarias, autoridades de salud nacional y el Comité de Ética en Investigación.
- 13. ¿QUIÉNES PUEDEN CONTESTAR SUS PREGUNTAS?:** si usted, ahora o en cualquier otro momento, desea hacer una consulta sobre el estudio puede contactar a las siguientes personas:
 - a. Jaime Toro Gómez Teléfono: 2150169 - Celular: 3153338839
 - b. Daniel Noriega Rojas Teléfono: 2150169 - Celular: 313 2528929

En caso de considerar que sus derechos han sido vulnerados, por favor comuníquese con el Comité de Ética de la Fundación Santa Fe de Bogotá:

Comité Corporativo de Ética en Investigación
 Dr. Klaus Mieth
 Calle 119ª No 7 – 75
 Teléfono: 6030303 – Extensión 5402
 comiteinvestigativo@fsfb.org.co

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Al firmar este formulario, certifico todos los puntos siguientes:

- o He leído (o me han leído) este formulario de consentimiento informado en su totalidad y he recibido explicaciones sobre lo que me van a hacer y lo que se me pide que haga. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y entiendo que puedo hacer otras preguntas sobre este estudio en cualquier momento.
- o He recibido una copia de este formulario de consentimiento informado que puedo guardar como referencia.
- o Acepto que mi información personal confidencial esté disponible para que la revisen: el patrocinador o su representante o cualquier autoridad de salud, institución o entidad gubernamental asignada a esta tarea, o si corresponde, por el Comité de Revisión Institucional o el Comité de Ética
- o Autorizo que el investigador tenga acceso a los registros médicos del hospital en cualquier momento durante el periodo del estudio
- o Entiendo que tengo la libertad de retirarme del estudio en cualquier momento, sin justificar mi decisión y sin afectar la atención médica que reciba.
- o Comprendo que se me informará sobre cualquier eventualidad que pudiera afectar mi voluntad de seguir participando en este estudio.
- o Acepto voluntariamente participar en este estudio

1. FIRMAS:

Nombre y apellidos del participante/tutor legal	Cédula de ciudadanía:	
Firma del participante/tutor legal	Relación	Fecha y Hora
Nombre y apellidos del testigo	Dirección	Cédula de ciudadanía:

Firma del testigo	Relación	Fecha y Hora
Nombre y apellidos del testigo	Dirección	Cédula de ciudadanía:
Firma del testigo	Relación	Fecha y Hora

Nombre completo de la persona que realiza el procedimiento de consentimiento informado
(en letra de imprenta)

----- -----

Firma Fecha

ANEXO 5: Consentimiento Informado para controles

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA EN LA FUNDACIÓN SANTA FE DE BOGOTÁ

TÍTULO DEL ESTUDIO: Caracterización de los alelos del HLA clase II en pacientes con Neuromielitis Óptica de Bogotá, Colombia

PATROCINADOR: Universidad El Bosque

DIRECCIÓN DEL PATROCINADOR: Av.Cra 9 No.131 A- 02.

NOMBRE DEL INVESTIGADOR: Jaime Toro Gomez, MD FAAN FACP.

DIRECCIÓN Y TELÉFONO DEL INVESTIGADOR: Avenida 9 No. 116 - 20, Consultorio 409. Celular: 3153338839

SITIO DE INVESTIGACIÓN: Fundación Santa Fe de Bogotá

DIRECCIÓN DEL SITIO DE INVESTIGACIÓN: Carrera 7 No. 117 - 15.

La Fundación Santa Fe de Bogotá y el Departamento de Neurología lo están invitando a participar, como voluntario, en un protocolo de investigación para determinar si existe algún componente genético que pudiera estar influenciando la aparición de la neuromielitis óptica en los pacientes colombianos. Usted hace parte del grupo de los controles, es decir, aquellos individuos que no tienen la enfermedad neuromielitis óptica.

Este documento de Consentimiento Informado, le proporcionará la información necesaria para ayudarlo a decidir sobre su participación en el estudio. Por favor, lea atentamente la información. Si cualquier parte de éste documento no le resulta clara, si tiene alguna pregunta o desea solicitar información adicional, no dude en pedirla a cualquiera de los miembros del equipo de estudio, los cuales se mencionan al final de este documento.

1. NATURALEZA Y PROPÓSITO DEL ESTUDIO: el grupo de Investigación de Esclerosis Múltiple de la Fundación Santa Fe de Bogotá está interesado en estudiar si existe algún componente genético que pudiera estar influenciando el desarrollo de neuromielitis óptica y compararlo con las personas que no tienen la enfermedad. Para llevar a cabo este objetivo se estudiará un fragmento de información genética de las personas con neuromielitis óptica y las personas sin la enfermedad para determinar si hay alguna diferencia. A todos los individuos participantes les tomaremos una muestra de 10 mL (una cucharadita) de sangre de la vena del brazo izquierdo. Esta muestra servirá para estudiar la parte genética y, en las personas con la enfermedad, medir los niveles de anticuerpos contra la aquaporina-4, la cual es una proteína que el sistema de defensa de

los pacientes con neuromielitis óptica ataca con mucha frecuencia. Finalmente, se entregará una encuesta para diligenciar, en la que se incluyen datos personales y preguntas propias de su enfermedad. Al ser usted un individuo sin la enfermedad, el estudio no analizará los anticuerpos contra la aquaporina-4, ni la encuesta preguntará por factores propios de la enfermedad. La encuesta se diligenciará en los consultorios para investigación del Centro de Estudios e Investigación en Salud de la Fundación Santa Fe de Bogotá.

2. **TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS VENTAJOSOS PARA EL SUJETO:** dado que usted no tiene la enfermedad y es un control, no existen tratamientos a ofrecer. Sin embargo, usted es libre de no participar en el estudio.
3. **DURACIÓN ESPERADA DEL ESTUDIO Y NÚMERO DE SUJETOS PARTICIPANTES:** se espera tener resultados del estudio 1 año después de que sea iniciado. Se espera contar con, por lo menos, 100 participantes.
4. **PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO:** a todos los individuos participantes les tomaremos una muestra de 10 mL (una cucharadita) de sangre de la vena del brazo izquierdo. Esta muestra servirá para estudiar la genética. Al tratarse usted de un control, y no tener la enfermedad a estudio, no se estudiarán los anticuerpos relacionados con la enfermedad, descritos en el numeral 1 de este consentimiento. La muestra se tomará en el Laboratorio Clínico de la Fundación Santa Fe de Bogotá, en el área designada para venopunción.
5. **MANEJO DE MUESTRAS DE LABORATORIOS OBTENIDAS:** la muestra se codificará para proteger su anonimidad mediante el sistema del Laboratorio Clínico de la Fundación Santa Fe de Bogotá. Este sistema asigna un código único para cada muestra y será registrado en la base de datos del estudio. Solamente el investigador principal y el co-investigador principal tienen acceso a esta base de datos. Tras la toma de la muestra, esta será embalada y enviada al Laboratorio de Genética Humana de la Universidad de Los Andes manteniendo la cadena de custodia. Ahí será almacenada, únicamente los miembros del Laboratorio de Genética Humana investigadores del proyecto tendrán acceso a su muestra. Esta muestra no tiene ningún valor comercial y no será utilizada para ningún otro estudio sin su consentimiento. La muestra será guardada por un plazo mínimo de tres meses, hasta obtener y registrar los resultados del análisis genético y los anticuerpos. Tras esto, será desechada.
6. **RIESGOS Y BENEFICIOS:** esta investigación se considera de riesgo mínimo, ya que la toma de muestras de sangre no representa ningún riesgo para su integridad física, siendo el único efecto colateral probable un leve dolor en el sitio de la venopunción y en ocasiones una equimosis (morado) o inflamación. Los datos que se diligencien en la encuesta no serán divulgados sin su consentimiento. Las pruebas de laboratorio que le serán realizadas no tendrán ningún costo, ni usted ni su familia tendrán que pagar por ellas. Además, durante el evento de recolección de sangre y el diligenciamiento de la encuesta, se dará una charla informativa por parte de un experto en el tema para que usted pueda conocer más acerca de su enfermedad y aclarar dudas.

7. **¿QUE MÁS NECESITA SABER ANTES DE DECIDIR PARTICIPAR EN EL ESTUDIO?:** usted recibirá una copia de este formato de Consentimiento Informado, consérvela en un lugar seguro y utilícela como información y referencia durante todo el desarrollo del estudio. Esta investigación se llevará a cabo de acuerdo con la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud. Este documento fue revisado y aprobado por el Comité Corporativo de Ética en Investigación y cumple con todos los requerimientos metodológicos y éticos para ser desarrollado. Para garantizar la protección de sus derechos y seguridad, este estudio fue revisado y aprobado por el Comité de investigación y Ética de la Fundación Santa Fe de Bogotá, la Universidad de Los Andes y la Universidad El Bosque.
- a. Usted tiene derecho a conocer los resultados de las pruebas que se realicen, por lo que estos serán enviados a la dirección de correo electrónico suministrada en la información de contacto una vez estén disponibles. De la misma forma, usted los podrá consultar comunicándose directamente con el Doctor Jaime Toro al teléfono 2150169 en la ciudad de Bogotá o con el Doctor Daniel Noriega al teléfono 313 2528929 en la ciudad de Bogotá.
8. **PUEDEN EXISTIR RAZONES POR LAS CUALES USTED NO PUEDA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO:** si usted es menor de edad o padece de alguna enfermedad podría no ser candidato para este estudio.
9. **COMPENSACIÓN:** No habrá ninguna compensación por su participación en este estudio. El investigador recibirá compensación económica por la investigación realizada.
10. **CUBRIMIENTO DE EVENTOS ADVERSOS:** El investigador del estudio no espera que usted sufra algún problema de salud por participar en este estudio. No obstante, si como resultado directo de su participación en este estudio usted presenta alguna complicación relacionada con la investigación, la institución cubrirá los costos de su tratamiento médico y para ello cuenta con una póliza de seguros. Las limitaciones de esta compensación serán las de la legislación vigente
11. **¿QUÉ OCURRIRÁ SI DECIDE NO PARTICIPAR O SI CAMBIA DE IDEA DESPUÉS DE HABER ACEPTADO?:** la participación en este estudio es totalmente voluntaria, usted no está obligado a participar, puede retirarse en cualquier momento sin justificar su decisión, sin sufrir ninguna sanción o detrimento en la atención por parte de su médico ni de la institución.
12. **CONFIDENCIALIDAD:** el investigador asegurará que no se identificará al sujeto, se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad, utilizando códigos hasta donde las leyes y regulaciones lo permitan y no serán accesibles públicamente. Los datos obtenidos podrán ser consultados por el patrocinador, autoridades sanitarias, autoridades de salud nacional y el Comité de Ética en Investigación.

13. ¿QUIÉNES PUEDEN CONTESTAR SUS PREGUNTAS?: si usted, ahora o en cualquier otro momento, desea hacer una consulta sobre el estudio puede contactar a las siguientes personas:

- a. Jaime Toro Gómez Teléfono: 2150169 - Celular: 3153338839
- b. Daniel Noriega Rojas Teléfono: 2150169 - Celular: 3132528929

En caso de considerar que sus derechos han sido vulnerados, por favor comuníquese con el Comité de Ética de la Fundación Santa Fe de Bogotá:

Comité Corporativo de Ética en Investigación

Dr. Klaus Mieth

Calle 119ª No 7 – 75

Teléfono: 6030303 – Extensión 5402

comiteinvestigativo@fsfb.org.co

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Al firmar este formulario, certifico todos los puntos siguientes:

- o He leído (o me han leído) este formulario de consentimiento informado en su totalidad y he recibido explicaciones sobre lo que me van a hacer y lo que se me pide que haga. He tenido la oportunidad de hacer preguntas y entiendo que puedo hacer otras preguntas sobre este estudio en cualquier momento.
- o He recibido una copia de este formulario de consentimiento informado que puedo guardar como referencia.
- o Acepto que mi información personal confidencial esté disponible para que la revisen: el patrocinador o su representante o cualquier autoridad de salud, institución o entidad gubernamental asignada a esta tarea, o si corresponde, por el Comité de Revisión Institucional o el Comité de Ética
- o Autorizo que el investigador tenga acceso a los registros médicos del hospital en cualquier momento durante el periodo del estudio
- o Entiendo que tengo la libertad de retirarme del estudio en cualquier momento, sin justificar mi decisión y sin afectar la atención médica que reciba.
- o Comprendo que se me informará sobre cualquier eventualidad que pudiera afectar mi voluntad de seguir participando en este estudio.
- o Acepto voluntariamente participar en este estudio

1. FIRMAS:

Nombre y apellidos del participante/tutor legal	Cédula de ciudadanía:
---	-----------------------

Firma del participante/tutor legal	Relación	Fecha y Hora
Nombre y apellidos del testigo	Dirección	Cédula de ciudadanía:
Firma del testigo	Relación	Fecha y Hora
Nombre y apellidos del testigo	Dirección	Cédula de ciudadanía:
Firma del testigo	Relación	Fecha y Hora

Nombre completo de la persona que
realiza el procedimiento de
consentimiento informado (*en letra de
imprenta*)

Firma

Fecha

ANEXO 5: Formulario de Recolección de Datos

Tabla 18. Formulario de Recolección de Datos

Caracterización de los alelos del HLA clase II en pacientes con Neuromielitis Óptica de Bogotá, Colombia						CÓDIGO					
DATOS BÁSICOS											
1. INFORMACIÓN GENERAL DEMOGRAFICA											
1.1 PRIMER NOMBRE					1.2 SEGUNDO NOMBRE						
1.3 PRIMER APELLID					1.4 SEGUNDO APELLI						
1.5 TIPO DE DOCUMENTO DE IDENTIDAD			1.6 No. IDENTIFICACIÓN			1.7 FECHA DE NACIMIENTO			1.8 EDAD (años)		
☐ CC ☐ CE ☐ PA ☐ AS											
						DÍA		MES		AÑO	
1.9 SEXO		1.10 FECHA DE INGRESO AL ESTUDIO				1.11. LUGAR DE NACIMIENTO					
☐ H ☐ M											
		DÍA		MES		AÑO					
2. DATOS DE CONTACTO DEL PACIENTE											
2.1 MUNICIPIO DE RESIDENCIA					2.2 DIRECCIÓN						
2.3 LOCALIDAD / BARRIO			EMAIL		2.4 TELÉFONO FIJO			2.5 TELÉFONO CELULAR			
3. INFORMACIÓN DE CONTACTOS											
1	3.1.1 NOMBRE					3.1.2 PARENTESCO					
	3.1.3 DIRECCIÓN					3.1.4 LOCALIDAD / BARRIO			3.1.5 EMAIL		
3.1.6 LUGAR DE NACIMIENTO					3.1.7 TELÉFONO CELULAR						
2	3.2.1 NOMBRE					3.2.2 PARENTESCO					
	3.2.3 DIRECCIÓN					3.2.4 LOCALIDAD / BARRIO					
3.2.5 LUGAR DE NACIMIENTO					3.2.6 TELÉFONO CELULAR						
4. DATOS DE LA ENFERMEDAD (SÓLO CASOS)											
4.1 FECHA DE INICIO DE LA ENFERMEDAD			4.2 FECHA DE DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD			4.3 SEROPOSITIVIDAD IGG AQP4					
						POSITIVO NEGATIVO NO MEDIDO					
DÍA			ME			AÑO					
S			S								
4.4 ¿SE ENCUENTRA EN EL MOMENTO EN UNA RECAIDA?						4.5 NÚMERO DE RECAIDAS EN LOS ULTIMOS 2 AÑOS:					

SI NO			
4.6 PRESENCIA DE NEURITIS ÓPTICA, MIELITIS TRANSVERSA O AMBAS		4.7 NÚMERO DE RECAÍDAS EN LOS PRIMEROS 2 AÑOS	
4.8 CAMBIO EN COMPORTAMIENTO DE LA ENFERMEDAD LUEGO DE TRATAMIENTO		4.9 PUNTAJE EN ESCALA EDSS	
4.10 TRATAMIENTO ACTUAL: TRATAMIENTO AÑO		4.11 FECHA DE INICIO DEL TRATAMIENTO DIA MES AÑO	

ANEXO 6: Carta de aprobación del comité corporativo de Ética en investigación de la FSFB



Hospital
Universitario
Fundación Santa Fe de Bogotá

CCEI-12039-2020
Bogotá, mayo 19 de 2020

Doctor
JAIME TORO
Investigador Principal

Ref. Protocolo: "Caracterización de los Alelos del HLA clase II en pacientes con Neuromielitis Óptica en Bogotá, Colombia".

Cordial Saludo,

El Comité Corporativo de Ética en Investigación por revisión expedita realizada el 27 de abril de 2020, recibe y queda notificado del siguiente documento:

- Informe semestral del status del estudio hasta 21 de abril de 2020, de un estudio colaborativo de casos y controles, con la identificación de 40 casos, sin muestra recolectada a la fecha, el cual se encuentra detenido en la recolección de datos debido a la pandemia COVID-19, en espera de citar a los sujetos para toma de laboratorio y realización de encuestas.
- Igualmente, el Comité le solicita realizar las gestiones con la Subdirección de Estudios Clínicos para renovar la póliza PREVISORA No 1001329 que estaba vigente hasta el 3 de diciembre de 2019.

Se informa que su estudio se encontraba vigente hasta 18 de noviembre de 2019 según CCEI-10033-2018, con la presentación del presente informe se extiende su aprobación hasta 18 de noviembre de 2020. Tenga en cuenta que debe continuar presentando sus informes de forma semestral en los meses de abril y octubre de cada año mientras dure la investigación, hasta la entrega de conclusiones y publicación al Comité para el cierre de la misma.

Se recomienda en todo momento tener en cuenta la Política de Protección de tratamiento de datos personales APY-POL-060, así como lo mencionado en las Leyes 1581 de 2012 - Protección de datos personales y 1266 de 2008 Ley Hábeas Data - Manejo de información contenida en las bases de datos personales. Es su responsabilidad la confidencialidad de los datos.

Esta notificación quedara soportada en la reunión realizada el 18 de mayo de 2020, según acta 08.

KLAUS MIETH ALVIAR
Presidente
Comité Corporativo de Ética en Investigación
Telefax 6030303 Ext. 5402
comiteinvestigativo@fsfb.org.co