



Universitat Autònoma de Barcelona

**ADVERTIMENT.** L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

**ADVERTENCIA.** El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

**WARNING.** The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

TESIS DOCTORAL

---

**SÍNDROME DE BEHÇET: ESTUDIO DE  
MICROCIRCULACIÓN E INMUNOTROMBOSIS Y  
CORRELACIÓN FENOTÍPICA**

---

**Tesis presentada para optar al grado de Doctor**

**Doctorando:**

Joan Maria Mercadé Torras

**Directores**

Dra. Maria Roser Solans Laqué

Dr. Segundo Buján Rivas

**Tutor**

Dr. Albert Selva O'Callaghan

**UAB**

Universitat Autònoma de Barcelona

**Programada de doctorado en Medicina, Departamento de Medicina.**

**Facultad de Medicina. Universitat Autònoma de Barcelona.**

**Año de depósito: 2022**



A Paola, Joan y Emma



## **AGRADECIMIENTOS:**

*Quizás la parte más complicada de la tesis sea agradecer a todas las personas que han contribuido de alguna manera para poder llevar a cabo este trabajo, sin olvidarme a nadie, y poder transmitirles mi gratitud.*

*En primer lugar, estoy especialmente agradecido a Roser Solans. Ya cuando roté de residente por la Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas del H. Vall d'Hebron, me impresionó la capacidad de trabajo, las buenas formas y la ilusión que transmitía en el día a día con sus pacientes, más allá de lo mucho que aprendí y la admiración que le tengo como médica. Cuando, además, surgió la posibilidad de ir a su consulta y seguir aprendiendo, lo que recibí fue dedicación y paciencia. Finalmente, todo esto derivó en el trabajo actual, el cual no existiría sin su ayuda. Por todo ello, por la implicación y entusiasmo, gracias.*

*Este trabajo tampoco se entiende sin Segundo Buján. Como con Roser, cuando roté de residente por la Unidad, recibí un trato genial y siempre cordial, cercano y súper docente, lo cual no olvidaré. Esta implicación, y también paciencia, que ha tenido conmigo, se ha plasmado en el presente trabajo, gracias al cual tampoco habría sido posible y cuyas puntualizaciones están muy presentes. Gracias.*

*También querría hacer una mención especial a Albert Selva. Más allá de ser parte del proyecto como tutor, querría transmitir el respeto y la admiración que como médico le tengo, además del trato que siempre he recibido, de cordialidad, cercanía, paciencia, preocupación y colaboración en todo momento con el proyecto. Muchas gracias.*

*Agradecer sinceramente a Alfredo Guillén, Vicente Cortina, Janire Perurena, Manuel Hernández, Josep Pardos, Jaume Mestre y Fernando Martínez-Valle, por su implicación en el proyecto y sin los cuales tampoco podría haber llegado a buen término. Gracias Alfredo por todas esas capilaroscopias hechas, por tu buen hacer y siempre ayuda, por las escuchas activas cuando lo necesitaba... Gracias. Gracias Vicente, Janire y Manolo por vuestra colaboración desinteresada en todo momento y paciencia en muchos momentos del proyecto. Gracias Pep por tu ayuda, ideas y colaboración para poder iniciar y llevar a cabo este proyecto. Gracias Ferrán y Jaume por vuestra colaboración con los pacientes. Gracias.*

*También querría hacer una pequeña mención a los compañeros actuales y pasados en el H. Parc Taulí (Edu, Ricard, Marc, Mac,...) que me han facilitado mucho el poder realizar este proyecto y gracias a los cuales los días se hacen muy agradables y divertidos. Gracias.*

*Finalmente querría agradecer a mis padres los valores inculcados y la pasión por el trabajo que realizo. La dedicación, constancia y responsabilidad por el trabajo, son fruto de sus enseñanzas y valores transmitidos, así como la pasión que me genera esta profesión. También a mi hermano y hermana, Jordi y Mireia, porque parte de lo que soy es gracias a ellos.*





## **ABREVIATURAS:**

Ac: anticuerpo

AL: anticoagulante lúpico

ANA: *anti-nuclear antibodies*

ANCA: anticuerpo anticitoplasma de neutrófilos

AO: afta oral

APA: afectación pulmonar arterial

C5b9s: complejo de ataque a la membrana C5b9 soluble

CFT: *clottin formation time*

CPU: capilaroscopia periungueal

CT: *coagulation time*

DE: desviación estándar

DMARDS: *disease modifier anti-rheumatic drugs*

DNA: *deoxyribonucleic acid*

EN: eritema nodoso

ERAP1: *endoplasmic reticulum aminopeptidase 1*

FvW: factor de von Willebrand

GWAS: *Genome Wide Association Study*

HLA: *human leukocyte antigen*

HSP: *heat shock protein*

HTA: hipertensión arterial

HTAP: hipertensión arterial pulmonar

IC: intervalo de confianza

ICAM-1: *intercellular adhesion molecule 1*

IL: interleucina

MCF: *máximum clott firmnes*

MHC: *major histocompatibility complex*

OR: *odds ratio*

SNP: *single nucleotid polimorphism*

RNA: ácido ribonucleico

ROTEM: *Rotational tromboelastomer*

SB: síndrome de Behçet

SNP sistema nervioso periférico

TEP: tromboembolismo pulmonar

TFS: tromboflebitis superficial

TNF: *tumor necrosis factor*

TP: *prothrombin time*

TTPA: tiempo de tromboplastina parcial activado

TVP: trombosis venosa profunda

TSVC: trombosis de senos venosos cerebrales

UG: úlcera genital

VCAM-1: *vascular cell adhesion molecule 1*

## ÍNDICE:

RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1. Historia.....	12
1.2. Epidemiología.....	13
1.3. Etiopatogenia.....	14
1.3.1. Factores ambientales.....	14
1.3.2. Factores genéticos.....	15
1.3.3. Factores inmunológicos.....	16
1.4. Manifestaciones clínicas.....	18
1.5. Criterios diagnósticos.....	24
1.6. Tratamiento y pronóstico.....	26
2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	29
3. HIPÓTESIS.....	33
4. OBJETIVOS.....	36
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	39
6. RESULTADOS.....	50
6.1. Estudio 1: Análisis de la microcirculación en pacientes con síndrome de Behçet mediante capilaroscopia periungueal: estudio descriptivo y asociación fenotípica.....	51
6.2. Estudio 2: Estudio de inmutrombosis en el síndrome de Behçet: análisis del estado de la coagulación y papel del grupo sanguíneo y del sistema del complemento. Correlación con la activación del endotelio y el fenotipo clínico.....	63

6.3. Resultados conjuntos.....	81
7. DISCUSIÓN.....	83
7.1. Estudio 1: Análisis de la microcirculación en pacientes con síndrome de Behçet mediante capilaroscopia periungueal: estudio descriptivo y asociación fenotípica. ....	85
7.2. Estudio 2: Estudio de inmunotrombosis en el síndrome de Behçet: análisis del estado de la coagulación y papel del grupo sanguíneo y del sistema del complemento. Correlación con la activación del endotelio y el fenotipo clínico. ....	89
8. CONCLUSIONES.....	96
9. LÍNEAS DE FUTURO.....	99
10. BIBLIOGRAFÍA.....	102
11. ANEXO.....	116



## **RESUMEN**

El síndrome de Behçet (SB) es una enfermedad sistémica que se caracteriza por la presencia de aftas orales y/o genitales de repetición, afectación cutánea, articular, ocular, vascular, neurológica y digestiva. Se considera, según la clasificación de Chapel Hill, una vasculitis de vaso variable. Los síntomas suelen aparecer en la tercera o cuarta década de la vida. Su etiopatogenia sigue siendo desconocida, careciendo de un dato de laboratorio o histológico patognomónico. La principal causa de mortalidad secundaria al SB es la afectación vascular, ya sea por la ruptura de aneurismas o por eventos tromboticos.

El objetivo del presente trabajo fue investigar el estado de la microcirculación y de la coagulación y evaluar su utilidad clínica en una cohorte de pacientes con SB, en especial en aquellos con manifestaciones vasculares. Además, analizamos parámetros de activación de la coagulación y de actividad o lesión endotelial, junto a factores hematológicos e inmunológicos que podrían influir en un posible estado procoagulante. La tesis la integran dos estudios distintos.

En el primer estudio se analizó la utilidad de la capilaroscopia periungueal (CPU) en el diagnóstico de la afectación vascular/trombosis. Se incluyeron 65 pacientes con SB, de los cuales el 36,9% había presentado manifestaciones vasculares. Los pacientes con SB presentaron una elevada prevalencia de alteraciones en la CPU (47,7%) y un 15,4% de los sujetos presentaron 2 o más alteraciones. Las alteraciones más frecuentes fueron las tortuosidades y las ramificaciones, que se correlacionaron con tromboflebitis (TFS) previas ( $p=0,025$ ). La presencia de  $\geq 2$  alteraciones se asoció con manifestaciones vasculares ( $p=0,031$ ), especialmente con eventos tromboticos ( $p=0,024$ ) y en territorio venoso ( $p=0,01$ ). En cuanto a las diferentes manifestaciones

vasculares, la presencia de  $\geq 2$  alteraciones se asoció con TFS ( $p=0,003$ ). No se halló asociación entre el fenómeno de Raynaud y las alteraciones capilaroscópicas o la presencia de ANA. Sin embargo, los pacientes con SB y una alteración cualitativa en la CPU presentaron con mayor frecuencia ANA ( $p=0,003$ ). Un patrón capilaroscópico alterado, según los patrones de Cutolo *et al.*, se asoció con afectación venosa ( $p=0,018$ ), principalmente trombótica ( $p=0,049$ ) y en particular con TFS ( $p=0,025$ ).

En el segundo estudio se analizaron diferentes fases de la hemostasia: la activación endotelial (FvW, E-selectina, VCAM-1, ICAM-1), parámetros de coagulación (factor VIII) y la cinética de la coagulación (mediante tromboelastometría rotacional (ROTEM)). Así mismo, se evaluaron factores genéticos (HLA-B51 y grupo sanguíneo AB0) e inmunológicos (anticoagulante lúpico, anticuerpos relacionados con el síndrome antifosfolípido y factores del complemento) que podrían influir en un estado procoagulante. Se incluyeron 49 pacientes. El 38,8% había presentado afectación vascular. El 46,8% de los sujetos eran portadores del alelo HLA-B51, el cual se presentó como un factor genético protector frente a eventos vasculares ( $p=0,015$ ). Los pacientes con fenotipo vasculo-Behçet y manifestaciones trombóticas, presentaron niveles más altos de FvW ( $p=0,029$ ), en particular aquellos con TFS ( $p=0,005$ ), sin hallar correlación entre el grupo sanguíneo y las manifestaciones vasculares. También, se detectaron niveles más elevados de moléculas solubles de adhesión endotelial y complemento (C3, C4 y C5b9s) en pacientes con clínica vascular, aunque no se halló asociación estadísticamente significativa. Finalmente, la técnica ROTEM no fue de utilidad para diferenciar fenotípicamente a aquellos sujetos con SB y un mayor riesgo de presentar manifestaciones vasculares.



En conclusión, la CPU es una técnica útil para identificar a pacientes con SB y un mayor riesgo de presentar manifestaciones vasculares. El alelo HLA-B51 actúa como un factor genético protector frente a eventos vasculares en la etnia caucásica. El grupo sanguíneo no es un factor genético predisponente a presentar un mayor riesgo de trombosis en pacientes con SB. Los niveles más elevados de FvW en los pacientes con vasculo-Behçet sugieren una activación del endotelio en la etiopatogenia de la enfermedad, aunque no hemos hallado asociación entre los niveles de moléculas de adhesión endotelial y/o del complemento con la existencia de manifestaciones vasculares previas, ni con la actividad clínica de la enfermedad.



## **SUMMARY**

Behçet's syndrome (BS) is a systemic disease characterized by the presence of recurrent oral and/or genital ulceration, and skin, joint, eye, vascular, neurological and digestive involvement. BS is considered a variable vessels vasculitis, according to the Chapel Hill classification. Symptoms usually appear in the third or fourth decade. Its etiopathogenesis remains unknown, lacking a pathognomonic laboratory or histological data. The main cause of mortality due to BS is vascular involvement, either because of ruptured aneurysms or thrombotic events.

The objective of this study was to investigate the state of microcirculation and coagulation and to evaluate their clinical utility in a cohort of patients with BS, especially in those subjects with vascular involvement. In addition, we analyze coagulation activity and endothelial parameters, beside haematological and immunological factors, that could influence in a possible procoagulant state. This work is made up of two different studies.

In the first study, we analyzed the usefulness of nailfold capillaroscopy (CPU) in the diagnosis of vascular involvement/thrombosis. We included 65 patients with BS, of whom 36.9% presented vascular manifestations. We observed a high prevalence of alterations in CPU (47.7%) and up to 15.4% of the subjects included presented 2 or more alterations. The most frequent alterations were tortuosities and ramifications, which correlated with previous thrombophlebitis (TFS) ( $p=0.025$ ). The presence of  $\geq 2$  alterations was associated with vascular manifestations ( $p=0.031$ ), especially with thrombotic events ( $p=0.024$ ) and in venous territory ( $p=0.01$ ). Within the vascular manifestations, the presence of  $\geq 2$  alterations was associated with TFS ( $p=0.003$ ). We found no association between Raynaud's phenomenon and capillaroscopic alterations or

ANA. However, patients with BS and a qualitative alteration in the CPU presented more frequently ANA ( $p=0.003$ ). An altered capillaroscopic pattern, according to the patterns of Cutolo *et al.*, was associated with venous involvement ( $p=0.018$ ), mainly thrombotic events ( $p=0.049$ ), and in particular with TFS ( $p=0.025$ ).

In the second study, different phases of hemostasis were analyzed: endothelial activation (vWF, E-selectin, VCAM-1, ICAM-1), coagulation parameters (factor VIII) and coagulation kinetics (by rotational thromboelastometry (ROTEM)). Likewise, genetic (HLA-B51 and ABO blood group) and immunological factors (lupus anticoagulant, antibodies related to antiphospholipid syndrome and complement factors) that could influence a procoagulant state were evaluated. We included 49 subjects with SB. 38.8% presented previous vascular involvement. 46.8% of the subjects were carriers of the HLA-B51 allele, which appeared as a protective genetic factor against vascular events ( $p=0.015$ ). Patients with vasculo-Behçet phenotype and thrombotic manifestations presented higher levels of FvW ( $p=0.029$ ), particularly those with TFS ( $p=0.005$ ), without correlation between blood group and vascular manifestations. Although we detected higher levels of soluble endothelial adhesion molecules and complement (C3, C4 y C5b9s) in patients with vascular symptoms, we did not find any statistical association. Finally, the ROTEM technique was not useful to differentiate those subjects with BS and a higher risk of vascular involvement.

In conclusion, CPU is a useful technique to identify patients with BS and a higher risk of vascular events. HLA-B51 allele acts as a genetic protective factor against vascular manifestations in Caucasians patients with BS. Blood group is not a predisposing genetic factor for a higher risk of thrombosis in patients with BS. The

highest levels of FvW in patients with vasculo-Behçet suggest an activation of the endothelium in the etiopathogenesis of the disease, although we have not found any association between the levels of endothelial adhesion molecules and/or complement and previous vascular manifestations, nor with the clinical activity.



## **1. INTRODUCCIÓN**



### 1.1. Historia.

El síndrome de Behçet (SB) debe su nombre al dermatólogo turco Hulusi Behçet, quien en 1937 y a raíz de una serie de casos, describió los 3 signos cardinales de esta entidad (aftas orales, úlceras genitales y uveítis anterior con hipopion), y los agrupó en una sola enfermedad que denominó “complejo de triple síntoma” (1–4). Sin embargo, hay otros autores que atribuyen la primera mención del SB al oftalmólogo griego Benedict Adamantiades, quien presentó en 1931 el caso de un hombre de 20 años con brotes recurrentes de iritis con hipopion, úlceras orales y genitales, flebitis y artritis de rodilla (5,6), de ahí que también se la conozca como la enfermedad de Adamantiades-Behçet. Desde un punto de vista histórico, la primera mención del SB se le atribuye a Hipócrates en el siglo V a. C., en su libro “*Third book of endemic diseases*” (7–9).

En la actualidad, el SB se considera una vasculitis sistémica de vaso variable según la clasificación de Chapel Hill de 2012 (10) y su diagnóstico se basa en una serie de criterios clínicos (11), ya que carece de una prueba diagnóstica específica. La ausencia de un anticuerpo específico conocido, su curso en forma de brotes autolimitados y recurrentes, sin un claro desencadenante, y una respuesta inflamatoria sistémica anormalmente elevada, son características que plantean la hipótesis de que en realidad se trate de una enfermedad autoinflamatoria poligénica compleja (12–14). Sin embargo, a día de hoy, el SB no puede clasificarse dentro del grupo de las enfermedades autoinmunes, autoinflamatorias ni de las enfermedades relacionadas con el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de tipo I (15,16).

## 1.2. Epidemiología.

Considerada una enfermedad minoritaria, presenta una prevalencia variable según la región geográfica estudiada. Esto es debido a su característica distribución geográfica, concentrándose fundamentalmente entre las latitudes 30° y 45° norte, a lo largo de la antigua ruta de la seda, desde Asia oriental hasta los países del Mediterráneo. Las tasas de incidencia publicadas van de 0,05 a 3,9 casos por 100.000 habitantes y año (17–20), siendo Corea del Sur el país con una mayor incidencia reportada, mientras que en España, la incidencia anual estimada es de 0,32 casos por 100.000 habitantes y año (21,22). En cuanto a la prevalencia global estimada, es de 10,3 casos por 100.000 habitantes (23), aunque se han descrito tasas mucho más elevadas, como en el norte de Jordania (66 casos por cada 10.000 habitantes) (24) y en Turquía (60 casos por 10.000 habitantes) (25). En España, pocos estudios han reflejado la prevalencia de la enfermedad, estimándose en 5-5,6 casos por 100.000 habitantes (21,22,26), similar a la reportada en el Sur de Europa (5,3 casos / 100.000 habitantes) (23).

En cuanto a la agregación familiar se ha descrito que está presente entre el 1,12% y el 34% (27–31). Gül *et al* estimaron el riesgo de recurrencia de la enfermedad entre hermanos en 11,4-52,5 (28). Recientemente, Ahn *et al* han confirmado que la incidencia es mayor entre familiares de la misma generación, con un riesgo 165 veces mayor entre gemelos (32), tasas mayores que las publicadas en otras enfermedades genéticas complejas. Estas formas familiares se han asociado con presentaciones más tempranas (33).

### 1.3.Etiopatogenia.

Su etiología es aún desconocida. Se cree que la exposición a un agente infeccioso o ambiental específico, en pacientes con una predisposición genética, desencadenaría una reacción cruzada que conduciría a un proceso autoinmune (34). Se han relacionado con la etiopatogenia de la enfermedad:

#### 1.3.1. Factores ambientales.

Ya en 1937, cuando Behçet describió la entidad, sugirió el posible papel de un agente infeccioso (1). En la actualidad se cree que determinados antígenos de virus o bacterias podrían inducir una activación del sistema inmune en personas predispuestas genéticamente. En esta línea, el VHS-1 y el *Streptococcus sanguis* son los microorganismos que más se han relacionado con la patogenia (35–39). Se ha descrito que la proteína de choque térmico (HSP) estreptocócica de 65 kDa, por un mecanismo de mimetismo molecular, es capaz de actuar como desencadenante y generar una reacción cruzada con una HSP humana de 60/65 kDa, que además comparte antigenicidad con la mucosa oral (40). También, por un mecanismo de mimetismo molecular, se han relacionado con la etiopatogenia de la enfermedad el antígeno S de la retina, la proteína de unión a retinoides interfotorreceptores, la tropomiosina  $\alpha$  y la cristalina  $\alpha\beta$  (41,42). Otros microorganismos como *Mycobacterium tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Borrelia Burgdorferi*, *Helicobacter pylori*, *citomegalovirus*, *virus Epstein-Barr* y *parvovirus*, entre otros, han sido estudiados sin que se haya demostrado una asociación con el SB (70).

Además de los agentes infecciosos, el microbioma salivar e intestinal se han descrito como factores ambientales contribuyentes en la etiopatogenia y severidad de la

enfermedad, habiéndose reportado una menor diversidad de flora intestinal en pacientes con SB con respecto a personas sanas (43,44). Además, procedimientos dentales, orales y faríngeos se han relacionado con brotes, y la higiene oral con la severidad de la enfermedad (45–50).

### 1.3.2. Factores genéticos.

Estudios genómicos realizados mediante técnicas de *genome wide association study* (GWAS) sostienen que ciertas regiones del gen del antígeno leucocitario humano (HLA) A y HLA-B son los factores genéticos más fuertemente asociados con el SB (51). El subtipo que más se ha asociado con el riesgo de padecer SB en diferentes grupos étnicos es el HLA-B\*51 (34,52), estimándose una OR de 5,78 de desarrollar la enfermedad (53). A pesar de ello, esta asociación representa únicamente el 20% del componente genético de la enfermedad (54). En relación con este subtipo, habría que destacar la enzima codificada por el locus ERAP1, cuyo papel es fundamental en la presentación de las moléculas del MHC tipo I. El riesgo de SB asociado al polimorfismo rs17482078 del locus ERAP1 (55–62) se debe a una interacción epistática con el alelo HLA-B\*51, de modo que pacientes con ERAP1 de baja actividad aumentarían el potencial patogénico del HLA-B\*51 (63).

Dentro del MHC de tipo I, el subtipo HLA-A\*26 también se ha relacionado con riesgo de aparición de SB en una cohorte del noreste de Asia, con una OR de 4,02 entre la población HLA-B\*51 negativo (64,65). Además de este, otros subtipos que se han relacionado con un aumento del riesgo de desarrollar SB son el HLA-B\*15, HLA-B\*27 y HLA-B\*57, mientras que los subtipos HLA-A\*03 y HLA-B\*49 han mostrado un efecto protector (66). Otros estudios con técnicas GWAS han identificado las regiones

entre el HLA-B y el gen A relacionado con el complejo mayor de histocompatibilidad de clase I (polimorfismo rs116799036) y entre el HLA-A y HLA-F, como factores de riesgo independiente (66,67).

Fuera de la región del MHC, se han identificado polimorfismos de un solo nucleótido (PSNs) que podrían estar relacionados con la etiopatogenia del SB, destacando polimorfismos de los genes que codifican la interleucina (IL) -10, el receptor de la IL-23, IL-23/IL-12RB2 y los genes *STAT4* (34).

Además de los factores genéticos, fenómenos epigenéticos se han relacionado con la patogenia de la enfermedad. Así, la metilación de DNA, la modificación de histonas y RNAs no codificantes han sido relacionados con la patogenia, aunque con resultados contradictorios según la etnia (68,69).

### 1.3.3. Factores inmunológicos.

Diversas alteraciones de la inmunidad innata y adaptiva, además de factores solubles y anticuerpos, se han relacionado con el SB.

Considerado un fenómeno de activación del sistema inmune innato, se ha descrito una alta actividad intrínseca y oxidativa de los neutrófilos (70,71) y monocitos de pacientes con SB (72). Las células *natural killer* también se han observado aumentadas en pacientes con SB y su papel se ha relacionado con la respuesta celular Th1 (73,74). Además del sistema inmune innato, cada vez hay más evidencia de la participación de la respuesta inmune adaptativa, postulándose que un trastorno en la homeostasis de los subtipos de células Th1 y Th17 y un descenso de las células T

reguladoras, jugarían un papel fundamental en la patogenia del SB (15). En esta desregulación, se han relacionado las ILs. Destacan aquellas cuyos PSNs se han descrito asociados con la enfermedad, observándose niveles bajos de IL-10 (con propiedades antiinflamatorias) (34,75) y niveles elevados de IL-12 e IL-23 (proinflamatorias), en fases activas de la enfermedad (76). Otras citoquinas con propiedades proinflamatorias que se han relacionado con el SB son las IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, IL-18, IL-21, IFN- $\gamma$  y factor de necrosis tumoral (TNF)  $\alpha$ . Por el contrario, niveles bajos de otras ILs con propiedades antiinflamatorias, como las IL-27, IL-35 e IL-37, también se han correlacionado con la patogenia de la enfermedad (42,77,78). En relación con la inmunidad celular, también se ha descrito un mayor número de células T $\gamma\delta$  y una mayor actividad frente a infecciones por diferentes microorganismos (42).

En cuanto a la inmunidad humoral, no existe un anticuerpo (Ac) específico conocido, aunque algunos han sido relacionados con la enfermedad. Se ha descrito un aumento en la producción de Ac frente al antígeno  $\alpha$ -enolasa de la pared vascular y, consecuentemente, un aumento en la producción de Ac frente a células endoteliales (79). Se ha observado la presencia de Ac frente al complemento C1q, especialmente en pacientes con manifestaciones vasculares (80), y en un meta-análisis reciente se ha hallado una elevada prevalencia de anticuerpos antifosfolípido (anticardiopina y anti- $\beta$ 2 glicoproteína I) en pacientes con SB (81). En cuanto a las manifestaciones oculares, se han asociado con la presencia de Ac frente al antígeno S de la retina y frente a la proteína de unión a selenio (82–85). A pesar de estos estudios, no existen anticuerpos específicos que puedan ser utilizados como marcadores diagnósticos de la enfermedad.

Otros factores humorales que se han estudiado y relacionado con la etiopatogenia de la enfermedad son las alarminas (86), cuyas concentraciones plasmáticas se han hallado elevadas, en concreto la citoquina de alta movilidad del grupo 1 (87) y la *alarmin* S100A12, esta última relacionada con el grado de actividad de la enfermedad (88).

#### 1.4. Manifestaciones clínicas.

Los síntomas del SB suelen aparecer en la tercera o cuarta década de la vida y cursan característicamente con brotes y remisiones. El SB puede afectar prácticamente a cualquier órgano, siendo la fiebre una manifestación sistémica rara y habitualmente asociada a otra clínica (89). Las aftas orales (AO) son la principal manifestación y se hallan presentes en el 97-100% de los casos. Además, en el 80% de los pacientes son la primera manifestación y preceden en 7-8 años al resto de síntomas. Son cruciales para el diagnóstico, aunque clínicamente son indistinguibles de las presentes en la aftosis oral común o en otras entidades. Pueden aparecer en cualquier zona de la mucosa oral y faríngea, y se clasifican en menores (<1 cm), mayores (>1 cm) o herpetiformes (90–92).

La otra manifestación característica de la enfermedad son las úlceras genitales (UG) recurrentes, que se presentan en el 57-93% de los pacientes (90). Son similares a las AO, aunque más grandes y dolorosas, menos recurrentes y con mayor tendencia a dejar cicatriz. Se localizan principalmente en escroto y labios mayores, aunque pueden presentarse en pene, uretra, vagina y cérvix (90–92).

Las manifestaciones cutáneas, aunque no son específicas, son útiles para el diagnóstico. Se observan en el 38-99% de los pacientes, según las series, pudiendo

aparecer diferentes tipos de lesiones a lo largo de la evolución (91,93). Las lesiones papulopustulares o pseudofoliculitis y el eritema nodoso (EN) son las más prevalentes, esta última sobre todo en mujeres (90,94). Las úlceras cutáneas extragenitales, aunque raras (3% de los casos), son características y aparecen más frecuentemente en niños, sobre todo en ingles y zona perianal (90–92). Dentro de las manifestaciones cutáneas, hay que destacar el fenómeno de patergia, que, a pesar de no ser específico, es característico y por ello el test de patergia está incluido dentro de los criterios diagnósticos (11,95). Este test consiste en la inyección o punción de la piel con una aguja estéril y bajo medidas de asepsia y su examen posterior, a las 24-48h. Se considera la prueba positiva cuando aparece una pápula o pústula en la zona de punción. No obstante, en España se estima una prevalencia de positividad al test en torno al 16.3% (96), muy inferior al 60-70% reportado en pacientes turcos y japoneses (97). Otras manifestaciones cutáneas asociadas, aunque menos frecuentes, son el pioderma gangrenoso, la vasculitis leucocitoclástica y la dermatosis neutrofílica tipo Sweet-like (97,98).

Menos frecuente que las anteriores es la afectación musculoesquelética, aunque se describe hasta en un 50% de los casos. Se manifiesta en forma de artritis o artralgiás, que afectan principalmente a rodillas, tobillos, muñecas y codos. Suele ser monoarticular u oligoarticular, no erosiva ni deformante. La artrocentesis muestra un líquido de características inflamatorias, observándose a nivel histológico infiltración de la sinovial por neutrófilos y células mononucleares, con vasculitis de pequeño vaso y trombosis (97,99). A diferencia de la artritis, la miositis es rara y más frecuente en niños, habiéndose descrito signos de vasculitis en las biopsias musculares (100,101).



La clínica oftalmológica también es características del SB y aparece en el 30-70% de los casos. Es una causa importante de morbilidad a pesar del tratamiento, al condicionar ceguera en el 25-30% de los casos (93,99). De curso agudo y recurrente, suele aparecer en los primeros años y afecta más frecuentemente y de forma más grave a hombres jóvenes (102). Aunque se han descrito diversas manifestaciones oculares, la uveítis es la principal. Puede ser unilateral o bilateral y anterior o posterior, o incluso aparecer como una panuveítis no granulomatosa asociada a vasculitis retiniana. La forma característica es la uveítis anterior con hipopion, aunque solo se observa en un tercio de los pacientes, y se asocia con vasculitis retiniana (97,103). En cambio, la uveítis posterior es más frecuente y más del 85% de los pacientes presentan una vitritis con apariencia de collar de perlas, muy sugestiva de SB. La vasculitis retiniana es la manifestación oftalmológica más frecuente tras la uveítis. Esta forma de vasculitis presenta preferencia por los vasos venosos y puede causar oclusión de las venas retinianas o sus ramas (vasculitis oclusiva). La presencia de hemorragias intrarretinianas profundas es también un dato característico de la vasculitis retiniana oclusiva asociada al SB (102).

Las manifestaciones digestivas, aunque son menos frecuentes, son potencialmente graves. Su prevalencia es más elevada en pacientes asiáticos, sin que existan diferencias entre sexos (104). La clínica se inicia a los 4,5-6 años desde la aparición de las AO (105). El síntoma principal es el dolor abdominal, aunque pueden asociarse náuseas, vómitos, diarrea y/o sangrado digestivo. Afecta mayoritariamente a la región ileocecal, donde se observan úlceras únicas o múltiples bien delimitadas (106), que resultan difíciles de diferenciar de la enfermedad de Crohn y de la tuberculosis intestinal. Histológicamente presentan una vasculitis neutrofílica con infiltración de la

pared venosa y un 30% de los casos puede complicarse con isquemia, perforación intestinal y sangrado digestivo, y menos frecuentemente con fístulas (7.6%) (104). Más raras son la afectación esofágica, gastroduodenal o rectal en forma de úlceras o anomalías de la motilidad, y la afectación hepato-bilio-pancreática (104–107).

Al igual que las manifestaciones digestivas, la clínica neurológica es potencialmente grave y se presenta entre el 3-10% de los pacientes (108). Predomina en hombres y suele aparecer a los 5 años tras el diagnóstico, asociándose con manifestaciones oculares (108). La clínica parenquimatosa es la predominante (80%), afectándose típicamente el tronco encefálico y provocando cefalea, meningitis o meningoencefalitis, crisis epilépticas, ataxia y/o hemiplejía (97,100). Menos frecuente es la afectación medular que aparece solo en el 14% de los casos y se localiza habitualmente a nivel cervical, manifestándose como disminución de la sensibilidad y en raras ocasiones debilidad, disfunción sexual y/o esfinteriana y dolor. Característicamente, los pacientes presentan una mielitis transversa longitudinal extensa que afecta a más de dos segmentos en la resonancia magnética, aunque se han descrito diversos tipos de lesiones (109–111). En cuanto a las manifestaciones neurológicas no parenquimatosas, suponen solo el 20% y consisten fundamentalmente en trombosis venosa de seno dural (TSVD), que representan el 14% del global y se asocia con hipertensión intracraneal (100,110). Los senos venosos superior y sagital son los que más frecuentemente se afectan (112), provocando cefalea y, en ocasiones, parálisis motora de pares craneales oculares. La clínica isquémica arterial en forma de ictus, es infrecuente (110). Otra afectación neurológica rara, que se ha descrito en estudios electrofisiológicos, es la del sistema nervioso periférico, en forma de neuropatía axonal motora y sensitiva, polirradiculoneuropatía aguda y mononeuritis múltiple (100,110).

Al SB también se le han asociado manifestaciones psiquiátricas, incluso sin afectación neurológica y sin relación con fármacos. Destacan la ansiedad y depresión, aunque se han descrito casos de psicosis aguda, trastorno obsesivo compulsivo, trastornos del sueño y de la conducta (112), además de deterioro de la memoria y de las capacidades cognitivas (110).

Otras manifestaciones raras asociadas al SB son la afectación renal, con casos descritos de glomerulonefritis y nefropatía IgA y la amiloidosis AA en contexto de mal control de la enfermedad. La afectación genitourinaria en forma de epididimitis, en cambio, se da en el 4 al 11% de los pacientes (99).

Además de los síntomas descritos, producidos en diferentes órganos por la propia inflamación vascular, el SB se asocia con manifestaciones propiamente vasculares, siendo la ruptura de aneurismas y la trombosis la principal causa de mortalidad (113). Aunque la afectación vascular se ha descrito hasta en un 40% de los casos (114), la prevalencia de estas manifestaciones varía según el grupo étnico. En España, el registro nacional de la enfermedad de Behçet (REGEG), estima la prevalencia de trombosis venosa profunda (TVP) en el 18.2% de los pacientes y un 13.2% presentan simultáneamente afectación arterial y venosa (115). El riesgo es mayor en hombres jóvenes al inicio de los síntomas (116,117), aunque aparece más tardíamente si la manifestación vascular es arterial y extrapulmonar (118). La afectación venosa predomina, con una relación 3:1 (97). La tromboflebitis superficial (TFS) es la manifestación vascular más frecuente (92,98). Le sigue la TVP, que aparece principalmente en extremidades inferiores (97). La oclusión vascular se debe a un

trombo marcadamente adherido a la pared, que generalmente no migra (116), y que puede provocar insuficiencia venosa crónica y estasis vascular, con claudicación intermitente y úlceras venosas (97). Además, la tasa de recidiva de la TVP en EEII es alta a pesar del tratamiento inmunosupresor, siendo el sexo masculino un factor de riesgo para la recurrencia (116,119). Menos frecuentes son las trombosis atípicas, como la trombosis de vena cava inferior o superior, trombosis de senos venosos cerebrales (TSVC), trombosis portal y trombosis de venas suprahepáticas (síndrome de Budd-Chiari) (120).

A diferencia de la afectación venosa, la afectación arterial es infrecuente. Así, menos del 5% de los pacientes van a presentar afectación pulmonar arterial (APA) (121), que se asocia en un tercio de los casos con TVP, TSVC y trombosis intracardiaca derecha (121). Su principal manifestación son los aneurismas en el sistema arterial pulmonar, siendo el SB la principal causa vasculítica de estos (122). La prevalencia varía desde el 1 al 33%, aunque se cree que están infradiagnosticados (123). Los aneurismas arteriales pulmonares en el SB predominan en hombres jóvenes, a partir de los 3-4 años desde el inicio de los síntomas (121,124,125). Pueden manifestarse como una hemoptisis masiva y hasta un 23% de los pacientes fallece en los 4 primeros años desde la presentación (97). La asociación de aneurismas pulmonares y tromboflebitis o trombosis en cualquier territorio, se conoce como síndrome de Hughes-Stovin o SB incompleto, ya que puede presentarse sin úlceras orales ni genitales (126). Mucho menos frecuentes son la trombosis arterial pulmonar y la hipertensión arterial pulmonar (HTAP). Dentro de las manifestaciones vasculares arteriales asociadas al SB son también una causa importante de morbimortalidad, por el riesgo de ruptura, los

pseudoaneurismas del cayado de la aorta, de la arteria subclavia, de troncos supraaórticos, de arterias coronarias y los aneurismas arteriales periféricos (97,124).

Aunque de forma infrecuente, el SB puede manifestarse a nivel cardiaco, afectando a las arterias coronarias o provocando pericarditis, miocarditis o endocarditis, con insuficiencia valvular aórtica y mitral, fibrosis endomiocárdica y trombosis intracardiaca, principalmente en ventrículo derecho (97,99,116). En cambio, son excepcionales las manifestaciones pulmonares y extrapulmonares no vasculares (121,124,125)

#### 1.5. Criterios diagnósticos.

Como se ha mencionado, el diagnóstico de SB se basa en unos criterios clínicos. Hasta la fecha se han publicado 17 criterios diagnósticos diferentes. Los más utilizados son los del Grupo de Estudio Internacional para la Enfermedad de Behçet de 1990 (Tabla 2.5.1.), que presentan una sensibilidad y una especificidad del 85% y 96%, respectivamente (11), y que fueron revisados en 2006, cuando se incluyeron las manifestaciones vasculares y neurológicas de la enfermedad. Ya en 2014, un grupo internacional ha publicado los *International Criteria for Behçet's Disease*, que presenta una mayor sensibilidad (94.8%) a expensas de una menor especificidad (90.5%) (95).

Tabla 2.5.1. (criterios diagnósticos del *International Study Group for Behçet's disease*)

<p>El paciente debe presentar, en ausencia de otra explicación clínica:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Úlceras orales recurrentes (aftas menores, mayores o herpetiformes) evidenciadas por un médico o paciente, con un mínimo de 3 episodios durante un período de un año</li></ol>
<p>Y dos de los siguientes:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>2. Úlceras genitales recurrentes</li><li>3. Lesiones oculares: uveítis anterior, uveítis posterior, presencia de células en el vítreo vistas por lámpara de hendidura o vasculitis retiniana descrito por un oftalmólogo</li><li>4. Lesiones cutáneas: EN, pseudofoliculitis, lesiones papulopustulosas o nódulos acneiformes en pacientes post-adolescentes sin corticoesteroides</li><li>5. Fenómeno de patergia, observado por un médico a las 24-48h.</li></ol>

Al no disponer de una prueba diagnóstica patognomónica y basarse su diagnóstico en criterios clínicos, es crucial excluir otras entidades que puedan presentar manifestaciones similares. Entre otras, la estomatitis aftosa recurrente, trastornos hormonales y déficits vitamínicos se deben tener en cuenta a la hora de evaluar las AO recurrentes.

El diagnóstico diferencial de las manifestaciones articulares, oculares, vasculares, gastrointestinales y neurológicas, es muy amplio. En este sentido, es importante excluir enfermedades hematológicas e infecciosas, como la tuberculosis, la sífilis y la infección por VIH, además de otras enfermedades autoinmunes como el LES, la sarcoidosis, el síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, las artropatías seronegativas, la esclerosis múltiple, la enfermedad celíaca y la enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedades autoinflamatorias, como la haploinsuficiencia A20, y el síndrome VEXAS. En caso de manifestaciones vasculares con eventos trombóticos es crucial descartar trastornos de la coagulación.

## 1.6. Tratamiento y pronóstico.

El objetivo del tratamiento del SB es conseguir una rápida resolución de la inflamación y prevenir de esta manera el daño orgánico que condiciona. Así, la intensidad del tratamiento dependerá de las manifestaciones clínicas, tal y como se refleja en las últimas recomendaciones de la *European League Against Rheumatism* publicadas en 2018, sobre el tratamiento del SB (127–129).

La colchicina continua siendo la piedra angular y primer escalón de tratamiento para la prevención de AO y UG, además de para las manifestaciones articulares y el EN. En general, los corticoides sistémicos se reservan para manifestaciones potencialmente graves, como la afectación oftalmológica, gastrointestinal, cardiovascular y neurológica. Además, existen diversos DMARDS que se utilizan como ahorradores de glucocorticoides y en casos graves y/o refractarios al tratamiento. Los más utilizados son la azatioprina, la ciclofosfamida y la ciclosporina, aunque hay un amplio y heterogéneo grupo de fármacos que se han usado y que se recomiendan en las últimas guías de la *European League Against Rheumatism* (128). De todos ellos, habría que destacar a los antagonistas del TNF, principalmente adalimumab e infliximab, cada vez más utilizados en casos graves y refractarios, con buenos resultados.

Más allá de estas recomendaciones generales, existen ciertas particularidades del tratamiento relacionadas con las manifestaciones vasculares debido a su gravedad. Por un lado, los aneurismas arteriales se asocian con una elevada mortalidad y ello implica un tratamiento inmunosupresor agresivo, valorando retrasar la cirugía hasta el control de la enfermedad, si la situación clínica del paciente lo permite. Por otro lado, el

tratamiento de las manifestaciones trombóticas se basa únicamente en la inmunosupresión, sin haber consenso sobre el uso de la anticoagulación que se recomienda únicamente en casos refractarios.

A pesar de los avances en el tratamiento y la expansión del uso de los anti-TNF, la mortalidad continua siendo elevada, sobre todo en varones de regiones orientales y del Mediterráneo, aunque las tasas de mortalidad más elevadas se han reportado en Turquía, donde hasta el 9.8% de los pacientes fallecen por causa vascular, ya sea por ruptura de aneurismas o por trombosis (93). Esta morbimortalidad aumentada, difiere según la etnia, incluso dentro de una misma área geográfica (130–132). La pérdida de visión por uveítis y las manifestaciones neurológicas son las principales causas de discapacidad entre estos pacientes (99), mientras que la vasculitis de grandes vasos, seguida de la afectación neurológica, son las principales causas de mortalidad (113). En este sentido, el sexo masculino, la afectación arterial y el número de brotes son factores que se han asociado con mal pronóstico (133).





## **2. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

El SB es una enfermedad poco frecuente (23), considerada según la clasificación de Chapel Hill como una vasculitis de vaso variable. Los síntomas suelen aparecer en la tercera o cuarta década de la vida. Carece de un dato de laboratorio o histológico patognomónico y requiere de una elevada sospecha clínica, lo que hace que en muchas ocasiones su diagnóstico sea tardío y ya con presencia de secuelas no reversibles, que condicionan un aumento de la morbimortalidad, a pesar del aumento de las opciones terapéuticas incorporadas en las últimas décadas.

La principal causa de mortalidad sigue siendo la vasculitis de grandes vasos (113), con tasas de hasta el 10% (93). Dentro de la clínica vascular, la manifestación más frecuente es la afectación trombotica venosa, siendo el riesgo mayor entre varones jóvenes en los primeros años tras el debut de la enfermedad (97,116,117). Estas manifestaciones tromboticas se deben a la oclusión de la luz del vaso por un trombo adherido a la pared, con bajo riesgo de desprendimiento (116), observándose fenómenos inflamatorios en forma de infiltración de neutrófilos en los vasa vasorum (134), aunque también se ha descrito infiltración por monocitos y linfocitos T en fases iniciales (135).

La etiopatogenia de estos eventos tromboticos es aún desconocida, siendo imposible predecir aquellos pacientes con un mayor riesgo de trombosis. Hasta la fecha, no se ha demostrado asociación con factores protromboticos (97,136), por lo que el estado procoagulante parece más relacionado con una alteración del endotelio, habiéndose reportado elevación de marcadores de activación/daño endotelial (137–140).

Además, en los últimos años se ha especulado con el papel que podría jugar la inmunidad en la activación de la coagulación y la formación de trombos

microvasculares. La lesión de las células endoteliales tiene la capacidad de activar a nivel local la cascada del complemento, con liberación de los factores C3a y C5a que participan en el reclutamiento y activación de monocitos, neutrófilos y plaquetas (141). De esta manera, alteraciones en la regulación del complemento se han asociado con fenómenos de microangiopatía trombótica (142).

Además de los fenómenos trombóticos, el SB se ha relacionado a nivel vascular con HTAP durante fases activas de la enfermedad, sugiriendo una posible afectación de la microcirculación (121).

Por todo ello, el objetivo de la presente tesis doctoral es investigar el estado de la microcirculación y de la coagulación en una cohorte de pacientes con SB, en especial aquellos con manifestaciones vasculares, así como evaluar su utilidad clínica. Además, se pretende evaluar parámetros de activación de la coagulación y de lesión endotelial, junto a factores hematológicos e inmunológicos que podrían influir en un posible estado procoagulante.



### **3. HIPÓTESIS**

Dada la frecuente afectación vascular de los pacientes con enfermedad de Behçet, es probable que éstos presenten alteraciones a nivel de la funcionalidad de la coagulación, y de factores moleculares relacionados con el endotelio y la inmunidad, que predispongan a padecer un evento vascular. Además, es probable que se asocie secundariamente una alteración en la funcionalidad de la microcirculación, que se correlacione con alteraciones en la capilaroscopia periungueal.





## **4. OBJETIVOS**

OBJETIVO PRINCIPAL: analizar la microcirculación en pacientes con SB y determinar si existe un estado protrombótico y de activación del endotelio, así como la implicación del complemento en ello.

OBJETIVOS SECUNDARIOS:

1. Analizar la microcirculación en pacientes con SB mediante capilaroscopia periungueal (CPU) e investigar posibles asociaciones con las manifestaciones vasculares, así como evaluar la posible utilidad de la CPU en el diagnóstico de SB.
2. Analizar si existe un estado protrombótico en pacientes con SB mediante tromboelastometría rotacional, y analizar la influencia del grupo sanguíneo AB0 y de los factores VIII y de Von Willebrand (FvW) de la coagulación en la hemostasia de estos pacientes y su asociación con manifestaciones vasculares.
3. Analizar la presencia de marcadores séricos de activación/daño endotelial (E-Selectina, VCAM-1 e ICAM-1) y su posible correlación con afectación vascular.
4. Analizar la posible influencia del sistema del complemento en los pacientes con manifestaciones vasculares, mediante la determinación de los niveles plasmáticos de los factores C3 y C4 y los niveles de C5b9 soluble (C5b9s).



## **4. PACIENTES Y MÉTODOS**

## 1. Sujetos del estudio:

En los últimos 30 años, en la Unidad de Enfermedad Autoinmunes Sistémicas del servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Vall d'Hebron de Barcelona se ha diagnosticado a 159 pacientes con SB. Los criterios utilizados para el diagnóstico de SB se basaron en los criterios de clasificación del *International Study Group* de 1990 y los *International Criteria for Behçet's Disease* de 2014 (11,95), tras ser valorados por un especialista en medicina interna. De estos 159 pacientes, 71 aún realizan seguimiento activo.

## 2. Variables clínicas:

Se recogieron retrospectivamente datos demográficos (edad al diagnóstico y actual, sexo y raza) y datos clínicos relevantes: factores de riesgo cardiovascular (hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus, dislipidemia y tabaquismo), antecedentes familiares de enfermedades autoinmunes, manifestaciones clínicas presentadas y tratamientos realizados. Además, se determinó el estado de la enfermedad al momento del estudio, clasificándolo en:

- a. Remisión, si el paciente se encontraba asintomático o presentaba manifestaciones menores que no condicionaban un cambio en el tratamiento (por ejemplo, aftas orales de pequeño tamaño y corta duración, que no condicionaban síntomas notorios). Dentro de este grupo, también se registró si el paciente se encontraba bajo tratamiento inmunosupresor, considerado como la toma de prednisona a dosis  $\geq 5$  mg o equivalente, tratamiento con modificadores de la enfermedad o terapia biológica.

- b. Brote, si el paciente presentaba sintomatología relacionada con el SB que condicionó un cambio en la medicación.

### 3. Variables analíticas:

Para el estudio se realizó la extracción de suero y plasma sanguíneo en tubos de citrato de sodio de los pacientes diagnosticados de SB. Las muestras fueron procesadas y analizadas en los laboratorios de hemostasia e inmunología del Hospital Universitario Vall d'Hebron de Barcelona, por técnicos y facultativos que desconocían las manifestaciones clínicas de los pacientes y sus tratamientos. Previamente al estudio, aquellos pacientes que realizaban tratamiento anticoagulante con antagonistas de la vitamina K fueron rotados a heparina de bajo peso molecular, para evitar interferencias con el estudio de coagulación. Se realizaron las siguientes determinaciones:

#### a) Anticuerpos antinucleares (ANA):

Para analizar la presencia de ANA, se recogieron las determinaciones previas y se realizaron nuevos análisis si se consideró oportuno. La determinación de ANA se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta sobre células Hep2, considerando un resultado positivo la presencia de títulos mayores a 1/80 en una o más determinaciones durante el seguimiento.

#### b) Evaluación de la coagulación:

Para la monitorización de la hemostasia global, se realizó un análisis viscoelástico mediante el uso de un tromboelastómetro rotacional (ROTEM) delta (Instrumentation Laboratory, Werfen, Bedford, EE. UU.) y los test NATEM,

INTEM y EXTEM. Estos test utilizan sangre total citrada a la que se añaden distintos reactivos según el test en cuestión:

- NATEM (*Non Activated ThromboElastoMetry*), que evalúa la hemostasia desde la activación de la coagulación, la formación y estabilización del coágulo hasta la fibrinólisis, sin usar aceleradores ni activadores. Para ello, únicamente se añade a la muestra reactivo star-tem ( $\text{CaCl}_2$ ).
- INTEM, que permite analizar la funcionalidad de la vía intrínseca de la coagulación, activada tras añadir reactivo star-tem ( $\text{CaCl}_2$ ) e in-tem (compuesto por ácido eláxico, que actúa como activador del sistema de contacto, y fosfolípido-tromboplastina parcial de cerebro de conejo).
- EXTEM, que analiza la funcionalidad de la vía extrínseca de la coagulación, activada tras añadir reactivo ex-tem (compuesto por factor tisular recombinante, fosfolípidos e inhibidor de la heparina).

El análisis de la muestra se inicia automáticamente al introducir la sangre con una pipeta en el tromboelastómetro rotacional, obteniendo en continuo resultados gráficos y numéricos durante 1 hora. Todas las muestras sanguíneas analizadas fueron obtenidas y procesadas en <90' tras su extracción, para garantizar la correcta evaluación de la prueba. El ROTEM es un test multiparamétrico que proporciona datos referidos a cada etapa de la hemostasia. En la tabla adjunta puede verse el conjunto de datos obtenidos para los pacientes incluidos en el estudio (Tabla 5.5.3.1.). Los resultados obtenidos se compararon con los valores de referencia facilitados por Werfen, considerando alterados aquellos que se situaban fuera del rango establecido (Tabla 5.5.3.2.).

Tabla 5.5.3.1. Parámetros de hemostasia estudiados con ROTEM delta y los test NATEM, INTEM y EXTEM.

Tiempo de coagulación (CT): tiempo desde el inicio del análisis hasta la formación inicial del coágulo con una amplitud de 2 mm.
Tiempo de formación del coágulo (CFT): tiempo desde el final del CT hasta que el coágulo alcanza una firmeza de 20 mm.
Ángulo alfa ( $\alpha$ ): ángulo formado entre la línea central y una tangente a la curva, tras alcanzar los 2 mm de amplitud.
Amplitudes (A) después del CT. En nuestro caso utilizamos A20: amplitud a los 20' de la máxima amplitud en el tromboelastograma.
Firmeza máxima del coágulo (MCF).
Índice de lisis (LI). En nuestro caso utilizamos el LI30: porcentaje del coágulo que ha sido fibrinolizado en 30'.

Tabla 5.5.3.2. Rangos de normalidad para cada test aportados por Werfen.

Test	CT (s)	CFT (s)	Ángulo $\alpha$ (°)	A20 (mm)	MCF (mm)
NATEM	300-1000	150-700	30-70	35-60	40-65
INTEM	100-240	30-110	70-83	50-71	50-72
EXTEM	38-79	34-159	63-83	50-71	50-72

También se realizaron las pruebas de coagulación habituales: tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPA), expresados en segundos, y concentración de fibrinógeno, expresado en g/L.



Además, se analizaron los niveles del factor VIII y FvW, como parámetros indicadores de un estado procoagulante, y la presencia de anticoagulante lúpico (AL), mediante test del veneno de víbora de Russell y *Silica Clotting Time*, y Ac IgG e IgM anti-cardiolipina y  $\beta$ 2-glicoproteína I utilizando un test CLIA QUANTA Flash®, de Werfen. Todas las determinaciones plasmáticas se realizaron utilizando reactivos e instrumentación de Instrumentation Laboratory, Werfen.

c) Moléculas solubles de adhesión endotelial:

Para analizar la activación del endotelio, se determinaron las moléculas de adhesión endotelial E-selectina/CD62E, ICAM-1/CD54 y VCAM-1/CD106, previamente descritas elevadas en el SB (143,144). Para ello, se utilizó un test ELISA para cada una de las moléculas (*Simple Plex assay for the detection of human E-Selectin*, *Simple Plex assay for the detection of human Intercellular Adhesion Molecule 1* y *Simple Plex assay for the detection of human Vascular Cell Adhesion Molecule 1*) de R&D Systems, bio-techne brand (Minneapolis, EE. UU.). Estos test utilizan sangre total citrada, que se separa mediante centrifugado durante 15' a 1000 x g dentro de los primeros 30' desde su extracción y luego se almacena en alícuotas a  $\leq 20^\circ$ . Posteriormente se añaden distintos reactivos según el test en cuestión, siguiendo las recomendaciones indicadas por bio-techne:

- Para la determinación de E-selectina, cada muestra requiere una dilución mínima de 10 veces con el diluyente. Los valores obtenidos se expresaron en pg/mL.
- Para la determinación de ICAM-1, cada muestra requiere una dilución mínima de 100 veces con el diluyente. Los valores obtenidos se expresaron en pg/mL.

- Para la determinación de VCAM-1, cada muestra requiere una dilución mínima de 100 veces con el diluyente. Los valores obtenidos se expresaron en pg/mL.

El análisis de la muestra se inicia automáticamente al introducir la sangre con una pipeta en un procesador automatizado de ELISA Simple Plex Assay on Ella™ (bio-technne Instruments, Minneapolis, EE. UU.). Los resultados numéricos son obtenidos tras 1 hora. Todas las muestras analizadas fueron almacenadas en alícuotas a  $\leq 20^{\circ}$ , tras un centrifugado de 15' a 1000 x g y dentro de los primeros 30' desde su extracción para garantizar la correcta evaluación de la prueba. Los resultados obtenidos se compararon con los facilitados por bio-technne, considerándose alterados aquellos que se situaban fuera de ese rango predeterminado. Los rangos de normalidad y media se muestran en la tabla 5.5.3.3.

Tabla 5.5.3.3. Valores medios y rangos de normalidad para cada test aportados por Bio-Techne.

Test	Media (pg/mL) (DE)	Rango de normalidad (pg/mL)
E-selectina	27.618 (12.214)	11.298-49.085
VCAM-1	668.967 (170.385)	321.648-879.975
ICAM-1	343.871 (96.653)	160.056-473.867

DE: desviación estándar.

d) Sistema del complemento:

Para el estudio del complemento se determinaron los niveles plasmáticos de C3 y C4 y del factor C5b9s, punto de unión de las 3 vías por las que se puede activar el sistema (vía clásica, alternativa y de las lectinas). Los niveles de C3 y C4 se determinaron de forma rutinaria en el laboratorio de inmunología mediante

nefelometría, con un analizador BN II System (Siemens Healthineers), mientras que para los niveles de C5b9s se utilizó un test de ELISA MicroVue C5b-9 Plus (de MicroVue™, Quidel Corporation, San Diego, EE. UU.). Este test utiliza plasma sanguíneo citrado, para cuyo procesado se siguieron las recomendaciones de Quidel. Los resultados obtenidos fueron comparados con los valores considerados dentro de la normalidad por el laboratorio de inmunología (127-303 ng/mL), estableciendo como alterados aquellos que se situaban fuera de este rango.

e) Grupo sanguíneo y factor Rh:

La determinación del grupo sanguíneo y factor Rh se realizó de forma rutinaria en el Banco de Sangre y Tejidos del H. Universitario Vall d'Hebron de Barcelona.

4. Capilaroscopia periungueal cualitativa:

Para la valoración de la microcirculación se estudiaron los pliegues periungueales utilizando un videocapilaroscopio digital Optilia (Optilia Instruments AB, Sollentuna, Suecia), con un aumento de lente de 200x y una lámpara LED. La prueba la realizó un médico referente en la técnica del servicio de medicina interna, quien desconocía las manifestaciones clínicas de los pacientes. Los sujetos a estudio fueron aclimatados durante al menos 20 minutos a una temperatura ambiente de 20-24°C antes de realizar la técnica. La CPU se realizó con un gotero de aceite de inmersión y un adaptador de contacto y se estudió desde el segundo al quinto dedo de ambas manos. Se usó el software Optipix Lite (Optilia Instruments AB) para la visualización de imágenes consecutivas de 1 mm de ancho de los capilares de primera línea.

La CPU cualitativa se llevó a cabo de acuerdo con las siguientes definiciones: pérdida capilar, definida como la existencia de áreas avasculares; capilar agrandado, cuando hay un aumento en el diámetro capilar  $>20 \mu\text{m}$ ; megacapilar, si presentan una dilatación capilar  $>50 \mu\text{m}$ ; microhemorragia, cuando se observan depósitos de hemosiderina distal; capilares tortuosos, vistos como rizados sin cruz; y neoangiogénesis, cuando se observan capilares ramificados, extraños, tupidos, desorganizados, ramificados o arborizados. Para el análisis cualitativo de los hallazgos, se usaron los patrones de capilaroscopia de Cutolo *et al* (normal, temprano, activo y tardío) (145), correlacionados con la evolución de la microangiopatía en la esclerodermia (146).

#### 5. Análisis estadístico:

Las variables se clasificaron en cualitativas o cuantitativas según sus características. Inicialmente se realizó un estudio descriptivo. Las variables cualitativas fueron expresadas en forma de proporción, mientras que las variables continuas fueron expresadas como media y desviación estándar (DE) si presentaban una distribución normal o bien como mediana y rango intercuartílico en caso contrario. Para el análisis de las variables categóricas se utilizó el test exacto de Fisher o chi-cuadrado. Para las variables cuantitativas continuas de distribución normal se utilizó la prueba t de Student-Fisher, mientras que en variables cuantitativas que no siguieran una distribución normal se utilizó la prueba U-Mann-Whitney. Se utilizó el test de normalidad de Shapiro-Wilk para evaluar la distribución de las distintas variables cuantitativas. Los intervalos de confianza del 95% se calcularon en aquellos casos que se consideró apropiado. Se realizó un estudio de regresión logística en el que se incluyeron aquellas variables con significación estadística en el estudio bivariado. El

análisis estadístico se realizó utilizando SPSS Statistics 28.0.1.1 (Inc., Chicago, EE. UU.). La significación estadística se consideró como un valor  $p$  inferior a 0.05.



## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Estudio 1: ANÁLISIS DE LA MICROCIRCULACIÓN EN PACIENTES CON SÍNDROME DE BEHÇET MEDIANTE CAPILAROSCOPIA PERIUNGUEAL: ESTUDIO DESCRIPTIVO Y ASOCIACIÓN FENOTÍPICA.**

#### **Características clínico-epidemiológicas:**

Se realizó un estudio transversal observacional en el que se incluyeron 65 pacientes, previo consentimiento informado, de los 71 que realizaban seguimiento activo en la Unidad de Enfermedad de Autoinmunes Sistémica del servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Vall d'Hebron de Barcelona. Las principales características demográficas están representadas en la Tabla 6.1.1.

La edad media de los sujetos incluidos al momento del diagnóstico fue de 30,3 años, con un tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico de 2,73 años. El 52,3% de los pacientes fueron hombres. El 84,6% era de etnia caucásica, el 10,8% norteafricana, el 3,1% asiática y el 1,5% latina. La edad media de los sujetos al momento de la CPU fue de 45,25 años (DE  $\pm$  14,01), como se muestra en la Tabla 6.1.1.

El 23,1% de los sujetos presentaba factores de riesgo cardiovascular. Únicamente el 4,6% presentaba diabetes y un 40,7% eran ex fumadores o fumadores activos a la entrada en el estudio. Los antecedentes familiares se analizaron hasta el segundo grado de parentesco. Solamente un paciente tenía antecedentes familiares de SB, mientras que 4 presentaban antecedentes de alguna otra enfermedad autoinmune sistémica.



Tabla 6.1.1. Descripción demográfica de la cohorte.

Variables demográficas	
<b>Edad media al diagnóstico, años (DE)</b>	30,37 ( $\pm$ 10,05)
<b>Retraso medio en el diagnóstico, años (DE)</b>	2,73 ( $\pm$ 4,85)
<b>Sexo, n (%)</b>	
Masculino	34 (52,3%)
Femenino	31 (47,7%)
<b>Etnia</b>	
Caucásica, n (%)	55 (84,6%)
Norteafricana, n (%)	7 (10,8%)
Asiática, n (%)	2 (3,1%)
Latina, n (%)	1 (1,5%)
<b>FRCV, n (%)</b>	15 (23,1%)
HTA, n (%)	10 (15,4%)
Diabetes mellitus, n (%)	3 (4,6%)
Dislipidemia, n (%)	10 (15,4%)
Hábito tabáquico	
No fumador, n (%)	38 (59,3%)
Exfumador, n (%)	12 (18,8%)
Fumador activo, n (%)	14 (21,9%)
<b>Antecedentes familiares</b>	
SB, n (%)	1 (1,5%)
Enfermedad autoinmune sistémica relacionada con tejido conectivo, n (%)	4 (6,2%)

DE: desviación estándar. FRCV: factores de riesgo cardiovasculares. HTA: hipertensión arterial.

La prevalencia de las manifestaciones clínicas de la cohorte estudiada se asemeja a la descrita en otras publicaciones (Tabla 6.1.2), salvo por una mayor incidencia de manifestaciones neurológicas. El 98,5% de los sujetos presentó úlceras mucosas y el 69,2% orales y genitales. Hasta un 81,5% de los pacientes manifestó sintomatología cutánea, siendo la pseudofoliculitis la más prevalente. Las manifestaciones oftalmológica, gastrointestinal y neurológica estuvieron presentes en el 41,5%, 12,3% y 27,7% de los pacientes incluidos, respectivamente.

En cuanto a las manifestaciones vasculares, hasta un 36,9% de los sujetos presentó, en algún momento de su enfermedad, afectación vascular, siendo la TFS (20%) y la TVP de extremidades (13,8%) las manifestaciones más frecuentes. Menos frecuentes fueron los aneurismas del sistema arterial pulmonar y la vasculitis de gran vaso, presentes en el 3,1% en ambos casos.

De los criterios clasificatorios de SB, el 75,4% y el 100% de los sujetos cumplían los criterios de clasificación del *International Study Group for Behçet's disease* (ISGBD) de 1990 y del *International Criteria for Behçet's Disease* (ICBD) de 2014, respectivamente.

Fuera del espectro clínico habitual asociado a la enfermedad, hasta un 29,2% presentó durante el seguimiento manifestaciones clínicas poco frecuentes del SB (orquitis de repetición, pericarditis, mononeuritis y nefropatía por IgA).

Tabla 6.1.2. Características clínicas de la cohorte.

Manifestaciones	Prevalencia, n (%)
<b>Úlceras mucocutáneas</b>	64 (98,5%)
Únicamente AO	19 (29,2%)
Úlceras orales y genitales	45 (69,2%)
Úlceras en otras localizaciones	10 (15,4%)
<b>Manifestaciones cutáneas</b>	53 (81,5%)
EN	29 (44,6%)
Pseudofoliculitis	43 (66,2%)
Vasculitis cutánea	4 (6,2%)
<b>Manifestaciones oculares</b>	27 (41,5%)
Uveítis anterior unilateral	12 (18,5%)
Uveítis anterior bilateral	4 (6,2%)
Uveítis posterior unilateral	5 (7,7%)
Uveítis posterior bilateral	1 (1,5%)
Panuveítis unilateral	5 (7,7%)
Panuveítis bilateral	8 (12,3%)
Vasculitis retiniana unilateral	6 (9,2%)
Vasculitis retiniana bilateral	6 (9,2%)
<b>Manifestaciones articulares</b>	44 (67,7%)
Monoartritis	16 (24,6%)
Oligoartritis	10 (15,4%)
Poliartritis	5 (7,7%)
Artralgias	31 (47,7%)
<b>Manifestaciones neurológicas</b>	18 (27,7%)
Meningoencefalitis aséptica	5 (7,7%)
Lesión desmielinizante	8 (12,3%)
Hipertensión endocraneal	4 (6,2%)
Trombosis de senos venosos cerebrales	3 (4,6%)
<b>Manifestaciones vasculares</b>	24 (36,9%)
TFS	13 (20%)
TVP en extremidades	9 (13,8%)
TEP	5 (7,7%)
TVP en otra localización*	7 (10,8%)
Aneurismas en arterias pulmonares	2 (3,1%)
Vasculitis de gran vaso	2 (3,1%)
<b>Manifestaciones digestivas</b>	8 (12,3%)
Afectación esofágica	1 (1,5%)
Afectación intestino delgado	6 (9,2%)
Colon	5 (7,7%)
<b>HLA-B51</b>	32 (49,2%)
<b>Criterios diagnósticos</b>	
ISG for Behçet's disease de 1990	49 (75,4%)
ICBD de 2014	65 (100%)

ICBD: *international criteria for Behçet Disease*. ISG: *international study group*. TEP: *tromboembolismo pulmonar*. TVP: *trombosis venosa profunda*.

\* *Trombosis venosa profunda en cualquier localización excepto extremidades y TEP (incluyendo las trombosis de senos venosos centrales)*.

Como aspectos clínicos relevantes en el estudio, se recogió la presencia de fenómeno de Raynaud y ANA. Se observó que el 12,3% de los pacientes (n = 8) presentaba fenómeno de Raynaud al momento de la inclusión. Para la determinación de ANA, se consideró un resultado positivo según la definición del apartado de la metodología (títulos de ANA mayores de 1/80 en una o más determinaciones). Únicamente no se pudo determinar la presencia de ANA en un paciente, que falleció durante el seguimiento. Así, se observó que el 53,8% de los pacientes (n = 35) incluidos en el estudio habían presentado ANA en algún momento del seguimiento.

En la Tabla 6.1.3 se muestran los distintos fármacos que los pacientes habían recibido hasta el momento de la inclusión. Destacan la colchicina y los glucocorticoides como fármacos más utilizados, con un 83,1% y 87,7%, respectivamente. En cuanto a los DMARDS, el más utilizado fue la azatioprina, en un 56,9% de los pacientes, seguido de la ciclosporina A, en un 30,8%. La terapia biológica con antagonistas del TNF fue necesaria en el 13,8% (n = 9) de los sujetos incluidos. El tratamiento anticoagulante se utilizó en el 29,2% (n = 19) de los pacientes, de los cuales, el 9,2% (n = 6) aún la realizaba al momento de la inclusión.

Tabla 6.1.3. Tratamientos realizados hasta el momento de la inclusión.

Fármacos	Prevalencia, n (%)
Colchicina	54 (83,1%)
Glucocorticoides	57 (87,7%)
Clorambucilo	3 (4,6%)
DMARDS	
Talidomida	5 (7,7%)
Ciclosporina A	20 (30,8%)
Azatioprina	37 (56,9%)
Micofenolato	3 (4,6%)
Metotrexato	2 (3,1%)
Tacrolimus	1 (1,5%)
Ciclofosfamida	3 (4,6%)
Anti-TNF	9 (13,8%)
Infliximab	5 (7,7%)
Adalimumab	4 (6,2%)
Anticoagulación	19 (29,2%)
Heparina	14 (21,5%)
Antagonista de la vitamina K	15 (23,1%)
Anticoagulación al momento de la inclusión	6 (9,2%)

Los resultados de la CPU se basaron en las definiciones establecidas previamente, mientras que para el análisis de los hallazgos se usaron los patrones de CPU de Cutolo *et al.* Se observó que el 47,7% (n = 31) presentaba al menos una alteración cualitativa en el momento de la CPU y el 15,4% (n = 10) presentaba  $\geq 2$ . Las alteraciones capilaroscópicas cualitativas más frecuentemente observadas fueron las tortuosidades y las ramificaciones, presentes en el 21,5% (n = 14) de los pacientes en ambos casos. Cabe destacar que únicamente el 28,6% (n = 4) de estos pacientes presentaba concomitantemente ambas alteraciones. De la cohorte estudiada, solo 2 sujetos presentaban megacapilares, y 8, microhemorragias, sin que se asociaran a fenómeno de Raynaud ni cumplir criterios de otra enfermedad autoinmune sistémica. No se observó desestructuración ni pérdida capilar en ningún sujeto. Se consideró un patrón normal en el 78,5% (n = 51) de los casos, mientras que en el 21,5% (n = 14) se determinó un patrón alterado. El resumen de resultados se muestra en la Tabla 6.1.4.

Tabla 6.1.4. Prevalencia de las alteraciones cualitativas en la CPU y análisis del patrón capilaroscópico.

CPU	Prevalencia, n (%)
Presencia de alteraciones cualitativas	
al menos 1 alteración	31 (47,7%)
≥2 alteraciones	10 (15,4%)
Tipos de alteraciones cualitativas	
Dilatación capilar	5 (7,7%)
Megacapilares	2 (3,1%)
Hemorragias	8 (12,3%)
Tortuosidades	14 (21,5%)
Ramificaciones	14 (21,5%)
Desestructuración	0
Pérdida capilar	0
Patrón	
Normal	51 (78,5%)
Alterado	14 (21,5%)

No encontramos asociación entre las alteraciones cualitativas en la CPU y las características demográficas de los pacientes. Al analizar las manifestaciones según el órgano afecto, únicamente encontramos asociación estadísticamente significativa entre la afectación vascular y la presencia de ≥2 alteraciones en la CPU (OR de 5,21, IC 95%: 1,2 – 22,64, p=0,031).

Al analizar las alteraciones en la CPU y las distintas manifestaciones vasculares, observamos asociación entre haber presentado un evento trombótico y la presencia de ≥2 alteraciones en la CPU (OR 6,22, IC 95%: 1,42-27,25, p=0,024), especialmente si la trombosis era en territorio venoso, independientemente del tipo y la localización de la misma (OR 6,83, IC 95%: 1,55-30,08, p=0,01). Al analizar de forma individualizada las manifestaciones trombóticas, encontramos asociación entre haber presentado TFS y la

presencia de  $\geq 2$  alteraciones en la CPU (OR 10,28, IC 95%: 2,31-45,87,  $p=0,003$ ). El resto de resultados se muestran en la Tabla 6.1.5.

Tabla 6.1.5. Análisis de las manifestaciones vasculares y la presencia de  $\geq 2$  alteraciones en la CPU.

Manifestaciones vasculares	Presencia de $\geq 2$ alteraciones en la CPU		Significación (p)
	SI	NO	
Evento trombótico (arterial o venoso), n (%)	7 (10,8%)	15 (27,3%)	0,024
Evento trombótico venoso, n (%)	7 (10,8%)	14 (21,5%)	0,01
TFS, n (%)	6	7 (10,8%)	0,003
TVP extremidades, n (%)	2	7 (10,8%)	0,61
TEP, n (%)	0	5	
Trombosis venosa en otra, localización*, n (%)	2 (3,2%)	5 (7,7%)	0,29
Aneurismas en territorio arterial pulmonar, n (%)	0	2 (3,2%)	
Vasculitis sin trombosis, n (%)	0	2 (3,2%)	

\* Trombosis venosa profunda en cualquier localización que no sea extremidades y TEP (incluidas las trombosis de senos venosos centrales).

Cuando analizamos de forma individualizada las alteraciones cualitativas de la CPU, no encontramos relación con el territorio vascular afectado o el tipo de evento trombótico (arterial o venoso). En cambio, se observó asociación entre la presencia de ramificaciones y tortuosidades y haber presentado TFS (OR 4,71, IC 95%: 1,25-17,74,  $p=0,025$ , en ambos casos). En el resto de manifestaciones vasculares no se observó asociación con la presencia de alteraciones en la CPU (Tabla 6.1.6).

Tabla 6.1.6. Prevalencia y análisis individualizado de las alteraciones cualitativas en la CPU y las manifestaciones vasculares.

Manifestación vascular	Dilatación capilar		Megacapilares		Hemorragias		Tortuosidades		Ramificaciones		
	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	
<b>TFS, n (%)</b>	2 3,1%	11 16,9%	0	13	2 3,1%	11 16,9%	6 9,2%	7 10,8%	6 9,2%	7 10,8%	
	0,259		1		0,655		0,025		0,025		P
<b>TVP en extremidades, n (%)</b>	2 3,1%	7 10,8%	0	9	2 3,1%	7 10,8%	2 3,1%	7 10,8%	1 1,5%	8 12,3%	
	0,137		1		0,305		1		0,67		P
<b>TEP, n (%)</b>	0	5	1 1,5%	4 6,2%	0	5	1 1,5%	4 6,2%	1 1,5%	4 6,2%	
	1		0,149		1		1		1		P
<b>TVP en otra localización, n (%)</b>	1 1,5%	6 9,2%	0	7	1 1,5%	6 9,2%	3 4,6%	4 6,2%	1 1,5%	6 9,2%	
	0,445		1		1		0,164		1		P
<b>Aneurismas en a. Pulmonares, n (%)</b>	0	2	0	2	0	2	1 1,5%	1 1,5%	0	2	
	1		1		1		0,387		1		p
<b>Vasculitis*, n (%)</b>	0	2	0	2	0	2	0	2	0	2	
	1		1		1		1		1		p

Para el análisis del patrón capilaroscópico se usaron los patrones de Cutolo *et al*, correlacionados con la evolución de la microangiopatía en la esclerodermia (146) y que no se han utilizado hasta la fecha en el análisis de pacientes con SB. Encontramos asociación estadística entre haber presentado afectación exclusivamente en territorio venoso y un patrón inespecífico en la CPU (OR 4,84, IC 95%: 1,38-16,94, p=0,018). Las manifestaciones tromboticas, independientemente del tipo (arterial o venosa), presentaron una tendencia no significativa (p=0,056), mientras que cuando analizamos las trombosis exclusivamente venosas, independientemente del tipo y la localización, observamos asociación estadística con la alteración del patrón capilaroscópico (OR 3,89, IC 95%: 1,13-13,35, p=0,049). De forma individualizada, la TFS también mostró



relación con un patrón inespecífico en la CPU (OR 4,71, IC 95%: 1,25-17,74, p=0,025).

El resto de resultados se exponen en la Tabla 6.1.7.

Tabla 6.1.7. Correlación de las manifestaciones vasculares y un patrón capilaroscópico alterado.

Manifestación	Patrón inespecífico, n (%)	Significación (p)
TFS	6 (9,2%)	0,025
TVP en extremidades	3 (4,6%)	0,392
TEP	2 (3,1%)	0,292
Trombosis venosa en otra localización *	2 (3,1%)	0,638
Aneurismas pulmonares	0	1
Vasculitis	0	1

\*Trombosis venosa profunda no localizada en extremidades ni TEP

Posteriormente, analizamos los resultados de la CPU en el subgrupo de pacientes con fenómeno de Raynaud, sin encontrar asociación con las alteraciones cualitativas en la CPU ni con un patrón capilaroscópico alterado (Tabla 6.1.8).

Tabla 6.1.8. Resultados del análisis de sujetos con fenómeno de Raynaud y alteraciones en la CPU.

CPU		Fenómeno de Raynaud		Significación (p)
		Sí	No	
Dilatación, n (%)	Sí	1 1,5%	4 6,2%	0,493
	No	7 10,8%	53 81,5%	
Megacapilar, n (%)	Sí	1 1,5%	1 1,5%	0,233
	No	7 10,8%	56 86,2%	
Hemorragia, n (%)	Sí	3 4,6%	5 7,7%	0,052
	No	5 7,7%	52 80%	
Tortuosidad, n (%)	Sí	0	14 21,5%	0,185
	No	8 12,3%	43 66,2%	
Ramificación, n (%)	Sí	0	14 21,5%	0,185
	No	8 12,3%	43 66,2%	
Patrón capilaroscópico, n (%)	Sí	2 3,1%	12 18,5%	1
	No	6 9,2%	45 69,2%	

Finalmente, los pacientes con SB y al menos 1 alteración cualitativa en la CPU presentaban con más frecuencia ANA (OR 5,03, IC 95%: 1,72-14,7, p=0,003), mientras que no existía asociación con la presencia de  $\geq 2$  alteraciones (p=0,327). De forma individualizada, no encontramos asociación con las alteraciones cualitativas en la CPU, con una tendencia no significativa a presentar ANA y la visualización de hemorragias (p=0,063) y ramificaciones (p=0,067) (Tabla 6.1.9). Tampoco observamos relación entre el patrón capilaroscópico y la presencia de ANA.

Tabla 6.1.9. Análisis de la presencia de ANA y las alteraciones en la CPU y el patrón capilaroscópico.

CPU		ANA		Significación
		Sí	No	p
<b>Dilatación, n (%)</b>	Si	3 4,7%	2 3,1%	1
	No	32 50%	27 42,2%	
<b>Megacapilar, n (%)</b>	Si	1 1,6%	1 1,6%	1
	No	34 53,1%	28 43,8%	
<b>Hemorragia, n (%)</b>	Si	7 10,9%	1 1,6%	0,063
	No	28 43,8%	28 43,8%	
<b>Tortuosidad, n (%)</b>	Si	10 15,6%	4 6,3%	0,226
	No	25 39,1%	25 39,1%	
<b>Ramificación, n (%)</b>	Si	11 17,2%	3 4,7%	0,067
	No	24 37,5%	26 40,6%	
<b>Patrón capilaroscópico, n (%)</b>	Si	9 14,1%	5 7,8%	0,547
	No	26 40,6%	24 37,5%	

No encontramos asociación entre el fenómeno de Raynaud y la presencia de ANA (Tabla 6.1.10), así como tampoco entre las diferentes manifestaciones vasculares, el fenómeno de Raynaud y la presencia de ANA y las alteraciones en la CPU y el patrón.

Tabla 6.1.10. Correlación entre la presencia de ANA y fenómeno de Raynaud.

		ANA		Significación
		Sí	No	(p)
<b>Fenómeno de Raynaud, n (%)</b>	Si	4 6,3%	4 6,3%	1
	No	31 48,4%	25 39,1%	

## **5.2. ESTUDIO 2: ESTUDIO DE INMUNOTROMBOSIS EN EL SÍNDROME DE BEHÇET: ANÁLISIS DEL ESTADO DE LA COAGULACIÓN Y PAPEL DEL GRUPO SANGUÍNEO Y DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO. CORRELACIÓN CON LA ACTIVACIÓN DEL ENDOTELIO Y EL FENOTIPO CLÍNICO.**

### **Características clínico-epidemiológicas:**

Se realizó un estudio transversal observacional en el que se incluyeron 55 pacientes, previo consentimiento informado. Por problemas técnicos, únicamente se pudieron incluir en el análisis final 49 sujetos a los que se les realizaron las pruebas de laboratorio a estudio. Las muestras sanguíneas se recogieron a lo largo de un periodo aproximado de 8 meses (entre noviembre de 2021 y junio de 2022). Las principales características demográficas se muestran en la Tabla 6.2.1.

La edad media al momento del diagnóstico de los sujetos incluidos fue de 30,8 años, con un tiempo medio desde el inicio de los síntomas hasta el diagnóstico de 2,34 años. El 61,2% de los pacientes incluidos fueron hombres. La edad media de los sujetos al momento del estudio fue de  $47,2 \pm 13,05$  años, siendo en hombres de  $44,43 \pm 12,43$  años y en mujeres de  $51,58 \pm 13,12$  años, sin que esta diferencia de edad fuera estadísticamente significativa. El 77,7% de los pacientes incluidos eran de etnia caucásica, el 16,3% norteafricana, el 4,1% asiática y el 2% latina.

El 22,4% de los pacientes presentaba factores de riesgo cardiovascular. La HTA estaba presente en el 18,4% de los sujetos, mientras que un 4,1% y un 12,2% presentaban diabetes mellitus y dislipidemia, respectivamente. En cuanto al hábito

tabáquico, un 42,8% de los pacientes había sido o eran fumadores activos al momento del estudio. Además, recogimos la prevalencia de pacientes en tratamiento con anticonceptivos bifásicos o estrogénicos, observando que un 21,1% de las mujeres (8,2% del total de la muestra) recibía este tratamiento al momento del estudio.

En cuanto a los antecedentes familiares, se analizaron hasta el segundo grado de parentesco, presentando 1 paciente antecedentes de SB y 3 pacientes alguna otra enfermedad autoinmune sistémica.

Tabla 6.2.1. Descripción demográfica de la cohorte.

Variables demográficas	
<b>Edad media al diagnóstico en años (DE)</b>	30,8 ( $\pm$ 9,58)
<b>Retraso medio en el diagnóstico, años (DE)</b>	2,34 ( $\pm$ 4,81)
<b>Edad media al estudio, años (DE)</b>	47,2 ( $\pm$ 13,05)
<b>Sexo, n (%)</b>	
Masculino	30 (61,2%)
Femenino	19 (38,8%)
<b>Etnia, n (%)</b>	
Caucásica	38 (77,6%)
Norteafricana	8 (16,3%)
Asiática	2 (4,1%)
Latina	1 (2%)
<b>FRCV, n (%)</b>	11 (22,4%)
HTA	9 (18,4%)
Diabetes mellitus	2 (4,1%)
Dislipidemia	6 (12,2%)
Hábito tabáquico	
No fumador	27 (55,1%)
Exfumador	8 (16,3%)
Fumador activo	13 (26,5%)
Anticonceptivos	4 (8,2%)
<b>Antecedentes familiares, n (%)</b>	
SB	1 (2%)
Enfermedad autoinmune sistémica relacionada con el tejido conectivo	3 (6,1%)

DE: desviación estándar. FRCV: factores de riesgo cardiovasculares. HTA: hipertensión arterial.

La prevalencia de las manifestaciones clínicas de los pacientes incluidos se asemejó bastante a la descrita en otras publicaciones (Tabla 6.2.2), presentando la cohorte

estudiada una mayor frecuencia de manifestaciones articulares y neurológicas con respecto a otras series publicadas. El 98% de los pacientes había presentado úlceras mucosas previamente a la inclusión. En el 30,6% de los sujetos, las úlceras se presentaron únicamente en mucosa oral, mientras que en el 67,3% fueron orales y genitales. La siguiente manifestación más frecuente fue la cutánea, presente en el 81,6% de los pacientes, siendo la pseudofoliculitis la más prevalente, observada en el 69,4% de los sujetos. La afectación articular se presentó en el 69,4% de los casos. Las manifestaciones oftalmológicas, gastrointestinales y neurológicas estuvieron presentes en el 44,9%, el 12,2% y el 28,6% de los pacientes incluidos, respectivamente.

Las manifestaciones vasculares se presentaron en algún momento de la enfermedad en un 38,8% de los sujetos, siendo la prevalencia en hombres del 40% y en mujeres del 36,8%. La TFS (22,4%) y la TVP de extremidades (14,3%) fueron las manifestaciones más frecuentes. Poco frecuentes fueron la presencia de aneurismas arteriales pulmonares y la vasculitis de gran vaso, presentes en el 2% (n = 1) y 4,1% (n = 2) de los sujetos estudiados, respectivamente.

El 46,8% de los sujetos eran portadores del alelo HLA-B51. De los criterios clasificatorios de la enfermedad, el 75,5% cumplía los criterios de clasificación del *International Study Group for Behçet's disease* de 1990, y el 100% del *International Criteria for Behçet's Disease* de 2014.

Fuera del espectro clínico habitual asociado a la enfermedad, un 24,5% presentó manifestaciones poco frecuentes o raras en el SB, como orquitis de repetición, pericarditis, mononeuritis y nefropatía por IgA.

Tabla 6.2.2. Prevalencia de las manifestaciones típicas del SB en la cohorte estudiada.

Características clínicas	Prevalencia, n (%)
<b>Úlceras mucosas</b>	48 (98%)
Únicamente AO	15 (30,6%)
Úlceras orales y genitales	33 (67,3%)
Úlceras en otras localizaciones	6 (12,2%)
<b>Manifestaciones cutáneas</b>	40 (81,6%)
EN	21 (42,9%)
Pseudofoliculitis	34 (69,4%)
Vasculitis cutánea	2 (4,1%)
<b>Manifestaciones oculares</b>	22 (44,9%)
Uveítis anterior unilateral	8 (16,3%)
Uveítis anterior bilateral	4 (8,2%)
Uveítis posterior unilateral	3 (6,1%)
Uveítis posterior bilateral	1 (2%)
Panuveítis unilateral	4 (8,2%)
Panuveítis bilateral	6 (12,2%)
Vasculitis retiniana unilateral	3 (6,1%)
Vasculitis retiniana bilateral	5 (10,2%)
<b>Manifestaciones articulares</b>	34 (69,4%)
Monoartritis	13 (26,5%)
Oligoartritis	7 (14,3%)
Poliartritis	5 (10,2%)
Artralgias	23 (46,9%)
<b>Manifestaciones neurológicas</b>	14 (28,6%)
Meningoencefalitis aséptica	4 (8,2%)
Lesión desmielinizante	5 (10,2%)
Hipertensión endocraneal	4 (8,2%)
TSVC	3 (6,1%)
<b>Manifestaciones vasculares</b>	19 (38,8%)
Trombosis arterial y venosa	17 (34,7%)
TFS	11 (22,4%)
TVP en extremidades	7 (14,3%)
TEP	2 (4,1%)
TVP en otra localización	5 (10,2%)
Aneurismas pulmonares	1 (2%)
Vasculitis de gran vaso	2 (4,1%)
<b>Manifestaciones digestivas</b>	6 (12,2%)
Afectación esofágica	1 (2%)
Afectación intestino delgado	6 (12,2%)
Colon	3 (6,1%)
<b>HLA-B51 (n = 47)</b>	22 (46,8%)
<b>Criterios diagnósticos</b>	
<b>ISG for Behçet's disease de 1990</b>	37 (75,5%)
<b>ICBD de 2014</b>	49 (100%)

ICBD: *international criteria for Behçet Disease*. ISG: *international study group*. TEP: *tromboembolismo pulmonar*. TFS: *tromboflebitis superficial*. TSVC: *trombosis de senos venosos cerebrales*. TVP: *trombosis venosa profunda*.

En la Tabla 6.2.3 se muestran el estado del paciente al momento del estudio y la terapia recibida. Se observó que el 79,6% de los pacientes incluidos estaba en remisión, con un 38,8% de sujetos en tratamiento inmunosupresor, según la definición descrita en el apartado de metodología. Los fármacos más frecuentemente recibidos hasta del estudio fueron la colchicina (85,7%) y los glucocorticoides (87,8%). Dentro de los DMARDS, la azatioprina fue el fármaco más administrado (59,2%), mientras que la terapia biológica con anti-TNF fue necesaria en el 10,2% de los pacientes. Un 28,6% de los sujetos recibió terapia anticoagulante en algún momento, estando el 10,2% aún con tratamiento descoagulante al momento del estudio.

Tabla 6.2.3. Situación clínica al momento de la inclusión y prevalencia de pacientes en tratamiento inmunosupresor y fármacos recibidos. Prevalencia de anticoagulación.

Variable	Prevalencia, n (%)
<b>Situación clínica al momento del estudio</b>	
En remisión	39 (79,6%)
En brote	10 (20,4%)
<b>Pacientes con tratamiento inmunosupresor</b>	19 (38,8%)
<b>Prevalencia terapia utilizada:</b>	
Colchicina	42 (85,7%)
Glucocorticoides	43 (87,8%)
Clorambucilo	2 (4,1%)
Apremilast	1 (2%)
Talidomida	3 (6,1%)
DMARDS	
Ciclosporina A	15 (30,6%)
Azatioprina	29 (59,2%)
Metotrexato	1 (2%)
Ciclofosfamida	1 (2%)
Anti-TNF	5 (10,2%)
Infliximab	1 (2%)
Adalimumab	4 (8,2%)
<b>Tratamiento anticoagulante</b>	14 (28,6%)
Heparina	11 (22,4%)
Antagonista de la vitamina K	11 (22,4%)
<b>Anticoagulación al momento de la inclusión</b>	5 (10,2%)



En la Tabla 6.2.4 se pueden ver los resultados de las principales variables analíticas analizadas en el momento del estudio, incluido el estudio básico de coagulación, con TP, TTPA y valores de fibrinógeno.

Tabla 6.2.4. Características analíticas de los pacientes al momento del estudio.

Variable	Media $\pm$ DE
Hemoglobina (g/dL)	14,62 $\pm$ 1,31
Leucocitos ( $\times 10^9/L$ )	7,28 $\pm$ 2,45
Plaquetas ( $\times 10^9/L$ )	243 $\pm$ 54,63
Velocidad de sedimentación globular (mm/h)	22,96 $\pm$ 18,7
Fibrinógeno (g/L)	4,09 $\pm$ 0,47
TP (s)	11,47 $\pm$ 1,73
TTPA (s)	31,9 $\pm$ 3,13
Vitamina B12 (pg/mL)	410,94 $\pm$ 167,29
Ácido fólico (ng/mL)	7,24 $\pm$ 4,24
Homocisteína ( $\mu\text{mol/L}$ )	10,48 $\pm$ 2,43
Lipoproteína A (mg/dL)	31,71 $\pm$ 37,13
Colesterol total (mg/dL)	202,88 $\pm$ 36,5
HDL (mg/dL)	59,06 $\pm$ 13,92
LDL (mg/dL)	121,47 $\pm$ 34,4
Proteína C reactiva (mg/dL)	0,37 $\pm$ 0,47
Gammaglobulinas (%)	14,47 $\pm$ 2,46

En aquellos pacientes con manifestaciones vasculares trombóticas, se recogió, retrospectivamente, el estudio de factores de riesgo asociados con eventos trombóticos (mutación del gen del factor V de Leiden o del gen de la protrombina G20210A, niveles de actividad de la proteína C y S, entre otros). Únicamente un paciente presentaba mutación para el factor V de Leiden.

Para el estudio del estado de la coagulación se realizó un análisis viscoelástico mediante la técnica ROTEM utilizando los test NATEM, INTEM y EXTEM, como se

ha descrito en el apartado de metodología. Se calcularon media y DE y mediana y cuartil según el caso, de los parámetros relacionados con la trombosis: CT, CFT, ángulo  $\alpha$  y MCF (Tabla 6.2.5). Los datos obtenidos se hallaron dentro del rango de normalidad, según los valores aportados por Werfen.

Tabla 6.2.5. Resultados de la técnica ROTEM: test NATEM, INTEM y EXTEM.

<b>ROTEM</b>	<b>Media <math>\pm</math> DE</b>	<b>Valores de normalidad</b>
<b>NATEM</b>		
CT, s	580,88 $\pm$ 111,93	300-1000
CFT, s	169 (137-198,5)	150-700
Ángulo $\alpha$ , °	58,73 $\pm$ 7,34	30-70
A20, mm	56,65 $\pm$ 4,98	35-60
LI30, %	99,96 $\pm$ 0,2	
MCF, mm	59,24 $\pm$ 4,59	40-65
<b>INTEM</b>		
CT, s	208,39 $\pm$ 20,51	100-240
CFT, s	89 (78,5-106)	30-110
Ángulo $\alpha$ , °	72 (69-74)	70-83
A20, mm	62,18 $\pm$ 4,31	50-71
LI30, %	99,84 $\pm$ 0,47	
MCF, mm	63,47 $\pm$ 4,20	50-72
<b>EXTEM</b>		
CT, s	79 (72,5-87)	38-79
CFT, s	106 (96-132,5)	34-159
Ángulo $\alpha$ , °	69 (64-71)	63-83
A20, mm	60,49 $\pm$ 4,49	50-71
LI30, %	99,98 $\pm$ 0,14	
MCF, mm	63 (59,5-65)	50-72

Los resultados están expresados en media  $\pm$  DE y mediana y rango (percentil 25%-75%) según su distribución, normal o no.

Simultáneamente, se determinó la presencia de AL, Ac IgG e IgM anticardiolipina y  $\beta$ -2 glicoproteína I; el grupo sanguíneo; los niveles del factor VIII y FvW de la

coagulación, los niveles de C3, C4 y C5b9s del sistema del complemento y la E-selectina, ICAM-1 y VCAM-1 y se calcularon la media y DE o mediana y rango, según su distribución. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.2.6.

Observamos como el 6,1% de los pacientes presentaban AL en la muestra de estudio, mientras que un 12,2% presentaba algún anticuerpo relacionado con el síndrome antifosfolípido. Únicamente en un caso se observó niveles superiores a dos veces el valor de la normalidad. El Ac más prevalente resultó el Ac anticardiolipina IgG (6,1%).

En cuanto al grupo sanguíneo, en nuestra cohorte de pacientes predominó el grupo A (44,9%), seguido del grupo 0 (36,7%). El 12,2% y el 6,1% fueron del grupo sanguíneo B y AB, respectivamente. Un 81,6% de los pacientes presentaba la proteína Rh.

La mediana del factor VIII de la coagulación resultó más elevada con respecto a los rangos establecidos como normales por el laboratorio, siendo del 157%. En cambio, la media del FvW se halló dentro del rango normal, siendo del 139,28%. Las medias y medianas del complemento C3, C4 y C5b9s, al igual que de E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1, se hallaron dentro del rango de valores preestablecidos como normales, según los diferentes test utilizados.

Tabla 6.2.6. Descriptivo de nuestra cohorte y valores de normalidad: AL, Ac antifosfolípido, grupo sanguíneo, factor VIII y FvW de la coagulación, complemento, moléculas solubles de adhesión endotelial.

Variable	Prevalencia / Media $\pm$ DE / Mediana (rango)	Rango de normalidad
AL positivo, n (%)	3 (6,1%)	
Presencia Ac antifosfolípido, n (%)	6 (12,2%)	
Anticardiolipina IgG, n (%)	3 (6,1%)	
anticardiolipina IgM, n (%)	1 (2%)	
b2 glicoproteína I IgG, n (%)	1 (2%)	
b2 glicoproteína I, IgM n (%)	2 (4,1%)	
Grupo sanguíneo		
0, n (%)	18 (36,7%)	
A, n (%)	22 (44,9%)	
B, n (%)	6 (12,2%)	
AB, n (%)	3 (6,1%)	
Rh		
Positivo, n (%)	40 (81,6%)	
Negativo, n (%)	9 (18,4%)	
Factor VIII de la coagulación (%)	157 (130,8-181,35)	50-150
FvW (%)	139,28 $\pm$ 49,2	45,6-176,3
C3 (mg/dL)	124,4 $\pm$ 20,12	85-180
C4 (mg/dL)	26,77 $\pm$ 7,55	10-40
C5b9s (ng/mL)	233 (173,5-291,9)	127-303
E-selectina (pg/mL)	26.807 (21.211-36.122,5)	11.298-49.085
VCAM-1 (pg/mL)	586.872 (509.479,5-734.977,5)	321,648-879,975
ICAM-1 (pg/mL)	397.023 (333.699-481.013)	160,056-473,867

Los resultados están expresados en porcentaje si son prevalencias y en media  $\pm$  DE o mediana y rango (percentil 25%-75%), según si la variable cuantitativa sigue una distribución normal o no.

Al realizar el análisis univariante de los resultados, no encontramos asociación estadística entre las características demográficas clínicas o analíticas y el fenotipo vasculo-Behçet, a excepción del alelo HLA-B51 (Tabla 6.2.7), que en nuestra cohorte de pacientes se presentó como un factor protector frente a manifestaciones vasculares (OR 0,175; IC 95% 0,046-0,667, p=0,015), en particular frente a eventos trombóticos,

independientemente del tipo (arterial o venoso) (OR 0,205; IC 95%: 0,054-0,782; p=0,032). Esta asociación protectora frente a manifestaciones vasculares únicamente se encontró en la etnia caucásica (OR 0,073; IC 95%: 0,013-0,416; p=0,002), no así en el resto de grupos étnicos.

Tabla 6.2.7. Asociación entre el alelo HLA-B51 y las manifestaciones clínicas.

Manifestación clínica	HLA-B51		Significación (p)
	Sí	No	
Úlceras orogenitales, n (%)	22 (46,8%)	24 (51,1%)	1
Dermatológica, n (%)	18 (38,3%)	20 (42,6%)	1
Articular, n (%)	16 (34%)	16 (34%)	0,55
Oftalmológica, n (%)	13 (27,7%)	7 (14,9%)	0,042
Neurológica, n (%)	7 (14,9%)	7 (14,9%)	1
Vascular, n (%)	4 (8,5%)	14 (29,8%)	0,015
Gastrointestinal, n (%)	1 (2,1%)	4 (8,5%)	0,35

Para el estudio de la coagulación, analizamos los parámetros relacionados con la formación del coágulo mediante la técnica ROTEM (CT, CFT, ángulo  $\alpha$  y MCF) y medimos los niveles de los factores VIII y FvW de la coagulación y C3, C4 y C5b9s del complemento, y la concentración de las moléculas solubles de adhesión endotelial (E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1) y lo correlacionamos con el fenotipo vasculo-Behçet y el grupo sanguíneo.

Al analizar los resultados obtenidos en nuestra cohorte de pacientes, no encontramos asociación entre las manifestaciones vasculares y el sexo, siendo la prevalencia de la clínica vascular muy similar en ambos grupos, como se ha mencionado previamente (en hombres, del 40%, y en mujeres, del 36,8%). Aunque encontramos diferencias estadísticamente significativas entre sexos al analizar los parámetros del ROTEM y los niveles de C5b9s, éstos se situaron dentro de los parámetros de la normalidad, a excepción del NATEM-CFT y EXTEM-CT, que estuvieron acortado en el grupo de las mujeres y alargado en el grupo de los hombres, respectivamente, como se muestra en la Tabla 12.1 del anexo.

En relación con el sexo de los pacientes, analizamos el efecto de la toma de anticonceptivos en los parámetros estudiados. De las 19 mujeres incluidas, el 21,1% (n = 4) tomaba anticonceptivos al momento del estudio. Ninguna de estas pacientes había presentado manifestaciones vasculares previamente a la inclusión. Al comparar ambos grupos, únicamente observamos un NATEM-MCF más bajo de lo esperable (145s) en aquellas pacientes que no realizaban tratamiento anticonceptivo, aunque sin diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. El resto de valores se situó dentro de los parámetros establecidos de la normalidad.

También se analizó la edad de los pacientes al momento del estudio. Utilizamos como punto de corte los 51 años de edad, ya que esta es la media de edad a la que se produce la menopausia según la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Observamos que el 61,2% de los pacientes eran menores de 51 años. Agrupando por sexos, los hombres menores de 51 años suponían el 73,3%, mientras que las mujeres eran el 42,1%, presentando una tendencia no significativa a ser de mayor edad las

mujeres con respecto a los hombres incluidos en el estudio ( $p=0,061$ ). Observamos diferencias estadísticas entre los mayores y menores de 51 años, pero al igual que con el sexo, los valores se encontraban dentro de la normalidad salvo un EXTEM-CT más prolongado en menores de 51 años, y mayores niveles de factor VIII de la coagulación, en los mayores de 51 años (ver Tabla 12.2 del anexo).

Analizamos los resultados obtenidos según la presencia de fenotipo vasculo-Behçet, sin encontrar asociación con los parámetros viscoelastométricos usados con la técnica ROTEM. En cambio, encontramos correlación entre las manifestaciones vasculares y niveles más elevados del FvW ( $p=0,03$ ) (Tabla 6.2.8). Entre los pacientes con eventos vasculares, también observamos niveles más elevados de factor VIII de la coagulación, moléculas solubles de adhesión endotelial y de los factores del complemento C3, C4 y C5b9s, aunque sin significación estadística.

Esta misma asociación con el FvW se observó al analizar las manifestaciones trombóticas ( $p=0,029$ ), en particular las venosas ( $p=0,025$ ), no así en la afectación vasculítica de gran vaso, como se muestra en la Tabla 6.2.9. De forma individualizada, únicamente hallamos correlación entre niveles más elevados de FvW y haber presentado TFS ( $p=0,005$ ). En el caso de la TVP en extremidades, también se encontró esta tendencia, aunque sin alcanzar la significación ( $p=0,056$ ). Aunque observamos niveles más elevados del factor VIII de la coagulación en las diferentes manifestaciones vasculares, no hallamos asociación estadística.

Tabla 6.2.8. Correlación de la técnica ROTEM, niveles de factor VIII y FvW, moléculas solubles de adhesión endotelial y complemento, y las manifestaciones vasculares.

Variable	Manifestaciones vasculares		Significación (p)
	Sí	No	
<b>NATEM</b>			
CT, s	571,68 ± 117,19	586,7 ± 110,1	0,65
CFT, s	182 (123-223)	167 (143,75-192,25)	0,92
Ángulo $\alpha$ , °	58,32 ± 8,95	59 ± 6,27	0,77
MCF, mm	59,21 ± 4,63	59,27 ± 4,63	0,96
<b>INTEM</b>			
CT, s	207,05 ± 18,99	209,23 ± 21,69	0,72
CFT, s	93 (75-116)	84,5 (78,75-105)	0,207
Ángulo $\alpha$ , °	70,63 ± 4,31	73 (69-74)	0,191
MCF, mm	63,32 ± 4,12	63,57 ± 4,32	0,84
<b>EXTEM</b>			
CT, s	84 (73-96)	78 (71,75-85,5)	0,21
CFT, s	122 (96-140)	105 (95,75-116,5)	0,26
Ángulo $\alpha$ , °	66 (63-71)	69 (66,5-71)	0,28
MCF, mm	63 (59-65)	63,5 (59,75-65)	0,45
FVIII (%)	169,8 (139,8-187,4)	151,85 (113,02-178,4)	0,139
FvW (%)	158,3 ± 44,04	127,24 ± 49,15	0,030
E-selectina (pg/mL)	29.023 (21.776-40.185)	26.682 (20.441-33.044,5)	0,22
VCAM-1 (pg/mL)	610.562 (529.747-713.349)	574.171 (491.528-759.706)	0,52
ICAM-1 (pg/mL)	425.696 (346.800-495.069)	378.025,5 (326.139-480.214)	0,27
C3 (mg/dL)	128,08 ± 22,46	122,06 ± 18,51	0,31
C4 (mg/dL)	27,62 ± 8,63	26,24 ± 6,88	0,53
C5b9s (ng/mL)	235,2 (155,5-320)	232,5 (178,5-278,02)	0,53

Los resultados están expresados en porcentaje si son prevalencias y en media ± DE o mediana y rango (percentil 25%-75%), según si la variable cuantitativa sigue una distribución normal o no.



Tabla 6.2.9. Correlación del FvW y el fenotipo vasculo-Behçet.

Manifestación vascular	Niveles de FvW (%)		Significación (p)
	Sí	No	
Evento trombótico (arterial y/o venoso)	160,19 ± 45,46	128,17 ± 48,1	0,029
Vasculitis de gran vaso	151,85 ± 21,99	138,74 ± 50,08	0,71
TFS	175,25 ± 38,85	128,87 ± 47,29	0,005
TVP en extremidades	172,1 ± 54,19	133,81 ± 46,79	0,056
TEP	142,95 ± 51,12	139,12 ± 49,68	0,91
TVP en otra localización	167,8 ± 58,09	136,04 ± 47,78	0,17

Así mismo, analizamos el papel del grupo sanguíneo. Encontramos que los pacientes con grupo sanguíneo no 0 presentaban niveles más altos de factor VIII ( $p < 0,001$ ) y FvW ( $p < 0,001$ ) de la coagulación. Salvo por el parámetro INTEM-CFT, observamos parámetros sugestivos de un estado procoagulante con los test NATEM, INTEM y EXTEM, aunque sin alcanzar la significación estadística en ningún caso, como se resume en la Tabla 6.2.10. En relación a las moléculas de adhesión endotelial, encontramos que los pacientes del grupo sanguíneo 0 presentaron niveles más elevados, siendo significativo en el caso de la E-Selectina ( $p < 0,001$ ).

Al analizar los grupos sanguíneos no 0 de forma individualizada, encontramos que los pacientes del grupo A presentaban niveles más elevados de factor VIII ( $p = 0,026$ ) y FvW ( $p = 0,049$ ) y niveles más bajos de E-Selectina ( $p = 0,007$ ), con respecto al resto de sujetos. En este contexto, y al igual que en pacientes con grupo sanguíneo no 0, se observó como los parámetros CT, CFT, ángulo  $\alpha$  y MCF de los test NATEM, INTEM y EXTEM eran sugestivos de un estado procoagulante en los pacientes del grupo A, aunque sin alcanzar significación estadística (Tabla 12.3 del anexo). En cuanto al grupo B y AB, no hallamos correlación con los parámetros analíticos estudiados, salvo niveles más bajos de E-Selectina en el grupo AB ( $p = 0,026$ ).

Tabla 6.2.10. Correlación de la técnica ROTEM, niveles de factor VIII y FvW de la coagulación, moléculas solubles de adhesión endotelial y complemento, con el grupo sanguíneo AB0.

Variable	Grupo sanguíneo		Significación (p)
	0	No 0	
<b>NATEM</b>			
CT, s	612,61 ± 110,63	562,45 ± 110,25	0,13
CFT, s	185 (149-214)	150 (127-192)	0,133
Ángulo $\alpha$ , °	56,44 ± 8,19	60,06 ± 6,58	0,09
MCF, mm	58,44 ± 4,21	59,71 ± 4,79	0,35
<b>INTEM</b>			
CT, s	215,61 ± 19,6	204,19 ± 20,14	0,06
CFT, s	88 (78-116,25)	89 (78-103)	0,66
Ángulo $\alpha$ , °	72,5 (67-74,25)	72 (69-74)	0,63
MCF, mm	62,94 ± 4,27	63,77 ± 4,2	0,51
<b>EXTEM</b>			
CT, s	79,5 (73,5-87)	78 (71-88)	0,81
CFT, s	107,5 (95,75-134,75)	106 (96-131)	0,93
Ángulo $\alpha$ , °	68 (63,75-71)	69 (64-71)	0,9
MCF, mm	61,5 (59,75-65)	63 (59-65)	0,53
FVIII (%)	133,3 (103,85-154,65)	178,4 (146,7-187,4)	<0,001
FvW (%)	105,5 ± 34,15	158,9 ± 46,15	<0,001
E-selectina (pg/mL)	35.205 (28.998,75-41.924,75)	24.621 (19.098-32.875)	<0,001
VCAM-1 (pg/mL)	598.713,5 (520.955,75-650.531,75)	576.207 (492.199-769.673)	0,95
ICAM-1 (pg/mL)	411.542 (343.033,25-482.167)	389.250 (333.555-482.611)	0,74
C3 (mg/dL)	125,36 ± 19,4	123,84 ± 20,83	0,80
C4 (mg/dL)	25,23 ± 5,2	27,67 ± 8,58	0,22
C5b9s (ng/mL)	235,6 (162,92-307,72)	231 (176-282)	0,73

Los resultados están expresados en porcentaje si son prevalencias y en media ± DE o mediana y rango (percentil 25%-75%), según si la variable cuantitativa sigue una distribución normal o no.

Sin embargo, cuando analizamos si existía correlación entre el grupo sanguíneo y las manifestaciones vasculares, no hallamos asociación con el grupo sanguíneo no 0

(Tabla 6.2.11), así como tampoco con cada grupo sanguíneo específico. Tampoco observamos correlación entre el grupo sanguíneo y las características demográficas basales de los pacientes.

Tabla 6.2.11. Correlación entre el grupo sanguíneo y las manifestaciones vasculares.

<b>Manifestaciones vasculares</b>	<b>Grupo 0</b>	<b>Grupo no 0</b>	<b>Significación (p)</b>
Trombosis arterial, n (%)	1 (2%)	0	0,36
TFS, n (%)	3 (6,1%)	8 (16,3%)	0,72
TVP en extremidades, n (%)	1 (2%)	6 (12,2%)	0,23
TEP, n (%)	1 (2%)	1 (2%)	1
TVP en otra localización, n (%)	2 (4,1%)	3 (6,1%)	1
Aneurismas pulmonares, n (%)	1 (2%)	0	1
Vasculitis de gran vaso, n (%)	1 (2%)	1 (2%)	1

Por último, analizamos los resultados obtenidos y su asociación con el estado de la enfermedad al momento del estudio, según la definición del apartado de metodología. Encontramos que el 26,3% de las mujeres, y el 16,7% de los hombres, estaban en brote a la entrada en el estudio, sin que existieran diferencias estadísticamente significativas al respecto ( $p=0,48$ ). Observamos que, salvo el INTEM-CT, el resto de parámetros analizados con la técnica ROTEM eran sugestivos de un estado procoagulante entre los sujetos en brote, presentando de forma significativa un MCF más elevado con los tres test y un ángulo alfa con el test EXTEM, como se muestra en la Tabla 6.2.12. Aunque no fue estadísticamente significativo, observamos niveles más elevados de FvW entre los pacientes en brote, sin que esto se asociara a niveles más elevados de factor VIII. No hallamos asociación con los niveles de las moléculas solubles de adhesión endotelial ni con los niveles del complemento.

Tabla 6.2.12. Correlación de la técnica ROTEM, niveles de factor VIII y FvW de la coagulación, moléculas de adhesión endotelial y complemento, con el estado de actividad de la enfermedad al momento de la entrada en el estudio.

Variable	Brote	Remisión	Significación (p)
<b>NATEM</b>			
CT, s	567,5 ± 103,96	584,31 ± 114,92	0,67
CFT, s	167 (108-206,5)	169 (143-198)	0,71
Ángulo α, °	60,2 ± 7,85	58,36 ± 7,27	0,48
MCF, mm	62 ± 4,16	58,54 ± 4,47	0,032
<b>INTEM</b>			
CT, s	208,8 ± 24,12	208,28 ± 19,83	0,94
CFT, s	82,5 (68,5-102)	90 (80-108)	0,26
Ángulo α, °	73,5 (69,25-75,5)	72 (69-74)	0,30
MCF, mm	66 ± 3,97	62,82 ± 4,06	0,032
<b>EXTEM</b>			
CT, s	74,5 (66,75-80,5)	81 (76-88)	0,051
CFT, s	96,5 (86,75-110,75)	109 (98-134)	0,056
Ángulo α, °	71 (67,75-73)	68 (64-70)	0,047
MCF, mm	66 (64-67)	62 (59-64)	0,005
FVIII (%)	145,25 (113,02-196,57)	158,6 (139,5-182)	0,59
FvW (%)	145,58 ± 53,28	137,66 ± 48,7	0,65
E-selectina (pg/mL)	29.518,5 (23.452,75-36.370,25)	26.719 (20.877-36.362)	0,76
VCAM-1 (pg/mL)	574.171 (497.826,5-769.172,75)	606.829 (513.548-713.349)	0,80
ICAM-1 (pg/mL)	445.610 (370.924,75-569.242)	393.975 (326.708-457.540)	0,10
C3 (mg/dL)	119,32 ± 20,71	125,7 ± 20,04	0,37
C4 (mg/dL)	28,6 ± 6,93	26,31 ± 7,71	0,39
C5b9s (ng/mL)	230,7 (173,35-335,25)	233 (171-282)	0,72

Los resultados están expresados en porcentaje si son prevalencias y en media ± DE o mediana y rango (percentil 25%-75%), según si la variable cuantitativa sigue una distribución normal o no.

Al analizar los resultados y la terapia que recibían los pacientes al momento de la inclusión, no hallamos asociación entre los niveles de las moléculas solubles de

adhesión endotelial ni los niveles del complemento, y el tratamiento con fármacos inmunosupresores. Además, salvo observar de forma aislada el NATEM-CT más acortado en los pacientes bajo tratamiento inmunosupresor, tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas entre la terapia recibida y los parámetros obtenidos con la técnica ROTEM y los niveles de factor VIII y FvW de la coagulación.

### 5.3. RESULTADOS CONJUNTOS:

A la luz de los resultados descritos, realizamos una regresión múltiple introduciendo las 3 variables que estaban significativamente relacionadas con las manifestaciones trombóticas venosas y/o arteriales en el estudio bivariado (tablas 2x2), que eran el alelo HLA-B51, la presencia de  $\geq 2$  alteraciones en la CPU y los niveles del FvW. Hallamos que tanto el alelo HLA-B51 como la presencia de  $\geq 2$  alteraciones en la CPU eran factores independientes de predicción de afectación trombótica, siendo el HLA-B51 un factor protector (OR 0,171, IC 95%: 0,39-0,752,  $p=0,019$ ), y las alteraciones en la CPU un factor de riesgo (OR 8,34, IC 95%: 1,22-56,98,  $p=0,030$ ). El FvW no resultó ser un factor independiente.



## **6. DISCUSIÓN**



Las manifestaciones vasculares son la principal causa de mortalidad en los pacientes con SB (113), siendo la trombosis, y en especial la venosa, la manifestación más frecuente (97). Se desconoce su etiopatogenia, y por tanto el motivo por el cual los pacientes con SB presentan un mayor riesgo de trombosis que la población general.

En la presente tesis abordamos el estudio de la microcirculación mediante la CPU y analizamos si existía alguna correlación con el fenotipo vascular (vasculo- Behçet). Por otro lado, analizamos el estado de la coagulación en los pacientes con SB, e investigamos si existían diferencias entre los pacientes con manifestaciones vasculares y los que no las presentaban, mediante un análisis viscoelástico con la técnica ROTEM, y un análisis de parámetros genéticos, de coagulación y de la inmunidad, que podrían jugar un papel procoagulante en el SB.

A continuación se discuten de forma más detallada e individualizada los resultados obtenidos en los dos estudios.

## **6.1. ESTUDIO 1: ANÁLISIS DE LA MICROCIRCULACIÓN EN PACIENTES CON SÍNDROME DE BEHÇET MEDIANTE CAPILAROSCOPIA PERIUNGUEAL: ESTUDIO DESCRIPTIVO Y ASOCIACIÓN FENOTÍPICA.**

El SB se caracteriza por la presencia de vasculitis de vaso variable, pudiendo afectar a arterias, venas y capilares de diferentes órganos. La CPU es una técnica no invasiva que permite estudiar la microcirculación a nivel del lecho ungueal, donde los capilares son paralelos a la superficie de la piel. Analizar posibles alteraciones en la microcirculación es indispensable en la evaluación del fenómeno de Raynaud, permitiendo diferenciarlo entre primario y secundario (147). Su utilidad también ha sido demostrada en la esclerosis sistémica, entidad en la que forma parte de los criterios diagnósticos (148). Sin embargo, las alteraciones en la microcirculación también se han asociado a otras enfermedades autoinmunes sistémicas, como el lupus eritematosos sistémico y las miopatías inflamatorias (149,150), y a enfermedades sistémicas no reumatológicas, como la diabetes (151). En el campo de las vasculitis, la utilidad de la CPU aún no está bien definida, habiéndose descrito alteraciones inespecíficas de la microcirculación (152,153).

Hasta la fecha, pocos estudios han analizado las alteraciones en la microcirculación en pacientes con SB, y con resultados dispares. Esto se debe en parte, a la baja prevalencia de la enfermedad, con estudios de cohortes en las que se incluyeron pocos pacientes, a los diferentes métodos empleados para su análisis, y quizás a diferencias étnicas. Por todo ello, decidimos analizar si existían alteraciones en la microcirculación de los pacientes con SB, mediante CPU, y así mismo, analizamos su utilidad en el diagnóstico y eventual caracterización fenotípica de la enfermedad.

En nuestro estudio, observamos que el 47,7% de los pacientes presentaba al menos una alteración en la CPU, datos similares a los descritos en estudios previos, con tasas que oscilan entre el 40-75% (154–156). Además, hasta un 15,4% de los sujetos presentaba de forma concomitante  $\geq 2$  anomalías cualitativas en la CPU. Las alteraciones cualitativas más frecuentemente halladas fueron las tortuosidades y las ramificaciones, presentes en el 21% de los pacientes en ambos casos, lo cual difiere de los estudios más recientes que utilizan criterios morfológicos similares, en los que predominaban las dilataciones y las hemorragias (156,157). Cabe destacar que únicamente el 28,6% de los pacientes presentaban simultáneamente tortuosidades y ramificaciones. Menos frecuentes fueron la dilatación capilar (7,7%), las hemorragias (12,3%) y los megacapilares (3,1%), sin que ninguno de los pacientes cumpliera criterios para otra enfermedad sistémica. No observamos desestructuración o pérdida capilar en ningún paciente, a diferencia de estudios previos (154–158). Además, analizamos estas alteraciones cualitativas usando los patrones de Cutolo *et al*, observando un patrón alterado en el 21,5% de los pacientes.

Hallamos que las anomalías en la microcirculación de los pacientes con SB son más frecuentes que en la población general, donde se observan alteraciones hasta en un 10% de sujetos sanos (159). El análisis de los resultados derivados de nuestro estudio no mostró asociación entre las alteraciones en la CPU y las características demográficas basales de los pacientes, ni tampoco con los factores de riesgo cardiovascular, a diferencia del estudio de Movasat *et al*. (156), en el que se halló asociación entre la presencia de megacapilares y un inicio más precoz de la enfermedad e HTA.

En nuestro estudio, las manifestaciones vasculares se asociaron con la presencia de  $\geq 2$  alteraciones en la CPU (OR de 5,21, IC 95%: 1,2 – 22,64,  $p=0,031$ ). No observamos relación con otros fenotipos clínicos, contrariamente a Movasat *et al.* (156) que describieron asociación clínica entre la presencia de hemorragias y la afectación articular. Dentro de las distintas manifestaciones vasculares, el haber presentado un evento trombótico (arterial o venoso) también se correlacionó con la presencia de  $\geq 2$  alteraciones capilaroscópicas (OR 6,22, IC 95%: 1,42-27,25,  $p=0,024$ ), especialmente si la trombosis era en territorio venoso (OR 6,83, IC 95%: 1,55-30,08,  $p=0,01$ ). De forma individualizada, dentro de los eventos trombóticos, la presencia de  $\geq 2$  alteraciones en la CPU se asoció con TFS (OR 10,28, IC 95%: 2,31-45,87,  $p=0,003$ ). Además, tras el análisis de factores genéticos y analíticos realizados posteriormente (estudio 2), observamos que la presencia de  $\geq 2$  alteraciones en la CPU era un factor de riesgo independiente de predicción de afectación trombótica (OR 8,34, IC 95%: 1,22-56,98,  $p=0,030$ ).

Las alteraciones cualitativas en la CPU no se asociaron con manifestaciones clínicas, salvo con la TFS, que se correlacionó con la presencia de ramificaciones y tortuosidades (OR 4,71, IC 95%: 1,25-17,74,  $p=0,025$ , en ambos casos), a diferencia de lo descrito por Movasat *et al.* (156) donde la TFS se asoció con la presencia de megacapilares.

En nuestra cohorte, el 12,3% de los pacientes presentaba fenómeno de Raynaud, siendo ligeramente superior a lo descrito por Movasat *et al.* (156). El resto de estudios realizados excluyeron o no describieron pacientes con fenómeno de Raynaud y SB (154,155,157,158). No encontramos asociación del fenómeno de Raynaud con las

alteraciones capilaroscópicas ni con las otras manifestaciones clínicas. También analizamos la presencia de ANA, que no se había descrito hasta la fecha, estando presente en el 53,8% de los casos. Observamos que los pacientes con SB y al menos una alteración cualitativa en la CPU presentaban con mayor frecuencia ANA (OR 5,03, IC 95%: 1,72-14,7,  $p=0,003$ ), sin que éstos se asociaran estadísticamente con las manifestaciones clínicas, incluido el fenómeno de Raynaud, o alguna alteración cualitativa o patrón capilaroscópico en la CPU.

Además, nuestro estudio es el primero que usa los patrones de Cutolo *et al.* (145) para analizar el patrón capilaroscópico y su relación con el fenotipo clínico, mostrando como un patrón capilaroscópico no normal o alterado se asocia estadísticamente con la afectación venosa (OR 4,84, IC 95%: 1,38-16,94,  $p=0,018$ ), principalmente trombótica (OR 3,89, IC 95%: 1,13-13,35,  $p=0,049$ ) y, en especial, con la TFS (OR 4,71, IC 95%: 1,25-17,74,  $p=0,025$ ).

En conclusión, las alteraciones en la CPU son frecuentes en los pacientes con SB. La presencia de  $\geq 2$  alteraciones o un patrón capilaroscópico alterado se asocia con manifestaciones vasculares, principalmente eventos trombóticos, y, en especial, con la TFS, resultando un factor de riesgo independiente para predecir afectación trombótica. Nuestros hallazgos sugieren que las alteraciones en la CPU están relacionadas con las manifestaciones vasculares del SB, sin conferir riesgo para ninguna otra manifestación específica. Se requieren más estudios prospectivos para confirmar estos resultados y aclarar el valor pronóstico de la CPU para determinar el riesgo de manifestaciones vasculares en los pacientes con SB.

## **6.2. ESTUDIO 2: ESTUDIO DE INMUNOTROMBOSIS EN EL SÍNDROME DE BEHÇET: ANÁLISIS DEL ESTADO DE LA COAGULACIÓN Y PAPEL DEL GRUPO SANGUÍNEO Y DEL SISTEMA DEL COMPLEMENTO. CORRELACIÓN CON LA ACTIVACIÓN DEL ENDOTELIO Y EL FENOTIPO CLÍNICO.**

La afectación vascular en el SB es muy frecuente, habiéndose descrito tasas superiores al 40% (114). La ruptura de aneurismas y los eventos trombóticos son la principal causa de mortalidad en estos pacientes, habiéndose observado tasas del 5-10% según la región (113,133). A pesar de que se han relacionado múltiples factores trombóticos, defectos de la fibrinólisis y alteraciones en la función de las plaquetas con la presencia de clínica vascular, la etiopatogenia de las manifestaciones vasculares es aún desconocida (97). Los hallazgos descritos hasta el momento, sugieren que estas manifestaciones podrían estar relacionadas con un daño o activación del endotelio, en pacientes con un estado protrombótico (140). Sin embargo, no existe un dato clínico o analítico que permita identificar qué pacientes tienen un mayor riesgo de presentar afectación vascular.

Se han descrito niveles elevados de moléculas solubles de adhesión endotelial, como la E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1, asociados a pacientes con SB (143,144). De igual manera, se han observado niveles más elevados de FvW en estos sujetos con respecto a pacientes sanos, especialmente durante las fases activas de la enfermedad (137,160,161). Sin embargo, hay que tener en cuenta que hasta un 25-30% de la variación en los niveles del FvW puede estar determinado por el grupo sanguíneo, ya que los antígenos A, B y AB protegen al FvW de la proteólisis y el aclaramiento por la

enzima ADAMTS-13, aumentando sus niveles basales en comparación con aquellos con grupo sanguíneo 0 (162). Así mismo, se ha descrito que niveles elevados de FvW (163) y los grupos sanguíneos no 0 actúan como factores de riesgo de eventos trombóticos y su recurrencia, en la población general (164–167).

El daño y la activación del endotelio, además de liberar FvW y P-selectina, activa a nivel local la cascada del complemento, con liberación de los factores C3a y C5a que participan en el reclutamiento y activación de monocitos, neutrófilos y plaquetas (141). Las alteraciones en la regulación del complemento pueden predisponer a fenómenos de microangiopatía trombótica y vasculitis, relacionando de esta forma la vía del complemento y la coagulación (142,168,169). Tanto las vasculitis de pequeño como las de mediano calibre, se han asociado con alteraciones de la vía del complemento (170), especialmente las asociadas a ANCA (171,172).

Por otra parte, en los últimos años ha habido un creciente interés en las pruebas que permiten analizar de forma global la coagulación. La técnica ROTEM es una modificación de la tromboelastografía descrita originalmente por Hartert en 1948 (173). Se trata de un test multiparamétrico que proporciona datos referidos a cada etapa de la hemostasia y cuya aplicación práctica ha ido en aumento en la última década, sobre todo a nivel quirúrgico (174). En el presente estudio evaluamos la técnica ROTEM en los pacientes con SB y analizamos su utilidad en el diagnóstico y eventual caracterización fenotípica de la enfermedad, a la vez que analizamos otros parámetros (genéticos, de coagulación y relacionados con el endotelio y la inmunidad), que podrían jugar un papel en el estado procoagulante.

En nuestra cohorte de pacientes, el 61,2% fueron hombres. Predominó la etnia caucásica (77,7%), seguida de la norteafricana (16,3%). La prevalencia de manifestaciones vasculares fue del 38,8%, sin que observásemos diferencias entre sexos (en hombres, la prevalencia fue del 40% y, en mujeres, del 36,8%). En cuanto a las características demográficas, el 46,8% de los sujetos incluidos eran portadores del alelo HLA-B51. Al igual que en otros estudios, observamos que ser portador del alelo HLA-B51 se asoció con manifestaciones oftalmológicas ( $p=0,042$ ) (175–177). Sin embargo, en nuestra muestra de pacientes, el HLA-B51 resultó un factor protector frente a las manifestaciones vasculares (OR 0,175; IC 95% 0,046-0,667,  $p=0,015$ ) y en particular frente a eventos trombóticos (OR 0,205; IC 95%: 0,054-0,782;  $p=0,032$ ), a diferencia de lo descrito anteriormente en otros estudios realizados en población turca (178,179). Esta correlación únicamente se observó en pacientes de etnia caucásica (OR 0,073; IC 95%: 0,013-0,416;  $p=0,002$ ). No se halló asociación con ningún factor analítico estudiado, siendo un factor genético independiente frente a manifestaciones vasculares en este grupo de pacientes con SB (OR 0,171, IC 95%: 0,39-0,752,  $p=0,019$ ).

Analizamos los factores conocidos contribuyentes de un estado procoagulante, observando que únicamente un paciente de nuestra cohorte presentaba una mutación heterocigótica para el factor V de Leiden. Además, el 6,1% y el 12,2% de los sujetos incluidos, presentaba AL o algún Ac relacionado con el síndrome antifosfolípido, respectivamente. Prevalencias inferiores a las descritas en un metaanálisis reciente (180). No obstante, ninguna de estas alteraciones analíticas se asoció con manifestaciones vasculares concretas.



Hasta donde sabemos, este es el primer estudio que utiliza el test NATEM, además del INTEM y EXTEM, para analizar el estado de la coagulación con la técnica ROTEM en los pacientes con SB. El estudio global de la coagulación mediante esta técnica, no mostró valores alterados en los sujetos incluidos. Cuando analizamos aquellos pacientes con manifestaciones vasculares, tampoco observamos asociación entre los parámetros viscoelastométricos analizados y el fenotipo vasculo-Behçet. Evaluamos, también, la influencia de la edad, el sexo y la terapia anticonceptiva en los resultados obtenidos con la técnica ROTEM, dado que se ha descrito que el sexo femenino, una edad más avanzada y la toma de anticonceptivos se asociaría con parámetros viscoelastométricos sugestivos de un mayor riesgo trombótico (181). Cabe destacar que en nuestra cohorte, la prevalencia de manifestaciones vasculares fue muy similar en hombres y mujeres, sin asociación con el sexo masculino, como se ha descrito previamente (115–117,182). Probablemente por este motivo, así como la influencia del sexo en los parámetros del ROTEM, y que las mujeres de nuestra cohorte presentaron una tendencia a ser de mayor edad con respecto a los hombres incluidos, observamos parámetros sugestivos de un estado procoagulante en la cohorte femenina, a diferencia de lo descrito previamente (183). Sin embargo, los valores observados estuvieron dentro de la normalidad, salvo un NATEM-CFT más acortado en mujeres. En cambio, y contrariamente a lo esperable, cuando analizamos la influencia de la terapia anticonceptiva, no observamos diferencias entre grupos, probablemente por el hecho de que las pacientes bajo tratamiento hormonal anticonceptivo no habían presentado manifestaciones vasculares previamente.

Los pacientes con fenotipo vasculo-Behçet presentaron niveles más elevados de FvW ( $p=0,03$ ), como se había descrito en dos estudios previos (184,185). Esta misma

asociación se mantuvo al analizar las manifestaciones trombóticas ( $p=0,029$ ), no así en la afectación vasculítica de gran vaso. Entre los pacientes con manifestaciones vasculares, también observamos niveles más altos de factor VIII de la coagulación, aunque no se halló asociación estadística, lo cual sugiere que la elevación de los niveles del FvW se debería a la activación o al daño endotelial. Así mismo, observamos un aumento de las moléculas solubles de adhesión endotelial (E-Selectina soluble, VCAM-1 e ICAM-1) y del complemento C3, C4 y C5b9s, que aunque no alcanzó significación estadística, apoyaría la hipótesis de la activación del endotelio como parte de la etiopatogenia de la enfermedad.

En relación con lo anterior, analizamos el papel del grupo sanguíneo en las manifestaciones vasculares. En nuestra cohorte de pacientes predominó el grupo A (44,9%), seguido del grupo 0 (36,7%). Los grupos B y AB representaron el 12,2% y el 6,1%, respectivamente. Prevalencias muy similares a las descritas en Cataluña (186), con una discreta inferioridad de pacientes del grupo 0 en favor de los grupos B y AB. Según lo esperado, observamos niveles más altos del factor VIII ( $p<0,001$ ) y del FvW ( $p<0,001$ ) de la coagulación entre los sujetos con grupo sanguíneo distinto de 0 y, de forma individualizada, del grupo A ( $p=0,026$  y  $p=0,049$ , respectivamente). A pesar de ello, no hallamos asociación entre el grupo sanguíneo no 0 y el fenotipo vasculo-Behçet, a diferencia del mayor riesgo trombótico global que se ha descrito en este conjunto de pacientes (164,165), así como tampoco con el grupo A en concreto. Esto, junto con la discrepancia en los niveles de moléculas solubles de adhesión endotelial entre los distintos grupos sanguíneos, sugeriría que las manifestaciones vasculares estarían relacionadas con alteraciones en el endotelio y no estarían influenciadas por un factor genético, como es el grupo sanguíneo.

Previamente, Fernández-Bello *et al.* (139) describieron niveles elevados de E-Selectina soluble durante fases activas de la enfermedad. En la misma línea, Beyan *et al.* (187) sugirieron que los niveles de FvW se modificaban en función de la actividad de la enfermedad, siendo más elevados en aquellos con actividad clínica. Contrariamente, en nuestra cohorte de pacientes no hallamos asociación entre la situación clínica y los niveles de las moléculas de adhesión endotelial o el FvW. De igual manera, tampoco encontramos asociación entre la actividad de la enfermedad y los niveles de los factores del complemento analizados (188–190), a diferencia de lo descrito previamente. Cuando evaluamos la influencia del tratamiento recibido al momento del estudio, tampoco observamos asociación.

En conclusión, en los pacientes de etnia caucásica, la ausencia del alelo HLA-B51 se asocia con un mayor riesgo de presentar manifestaciones vasculares. Este fenotipo clínico se asocia con niveles más elevados del FvW, particularmente en aquellos pacientes con afectación trombótica, sin que esto se correlacione con diferencias en el factor VIII de la coagulación. El grupo sanguíneo no 0 no constituye un factor de riesgo de eventos vasculares entre los pacientes con SB. Estos hallazgos sugerirían una participación del endotelio en la etiopatogenia de la enfermedad. No encontramos asociación entre los niveles del complemento y de las moléculas solubles de adhesión endotelial y la afectación vascular o el estado de la enfermedad (brote, remisión). Por último, en nuestra cohorte de pacientes, la técnica ROTEM no resultó útil para diferenciar aquellos pacientes con SB y un mayor riesgo de presentar un fenotipo vasculo-Behçet.



## **7. CONCLUSIONES**

Las conclusiones que podemos extraer de la presente tesis son:

1. La presencia de  $\geq 2$  alteraciones en la CPU se asocia con manifestaciones vasculares, siendo una prueba útil para identificar a este subgrupo de pacientes con un mayor riesgo de vasculo-Behçet. En nuestra cohorte de pacientes, tanto las ramificaciones como las tortuosidades se asociaron con TFS.
2. En la etnia caucásica, la presencia de HLA-B51 actúa como un factor protector independiente frente a la afectación vascular, especialmente frente a manifestaciones trombóticas.
3. Los pacientes con SB y manifestaciones vasculares presentan niveles más elevados de FvW respecto a los que no, en concreto aquellos con manifestaciones trombóticas, sugiriendo una participación del endotelio en la etiopatogenia de la afectación vascular.
4. En nuestra cohorte de pacientes, no observamos asociación entre los niveles de las moléculas solubles de adhesión endotelial ni la actividad del complemento, medido por los niveles de C3, C4 y C5b9s, con el fenotipo vasculo-Behçet ni el estado de actividad de la enfermedad.
5. La técnica ROTEM no resultó útil a la hora de diferenciar fenotípicamente aquellos pacientes de nuestra cohorte con un mayor riesgo de manifestaciones vasculares.



## **8. LÍNEAS DE FUTURO**



Los resultados de esta tesis aportan información sobre la utilidad de la CPU en los pacientes con SB, y la influencia de parámetros genéticos y analíticos en el fenotipo clínico de los mismos.

En relación con la CPU, consideramos importante confirmar nuestros hallazgos en otras cohortes y realizar estudios prospectivos, que evalúen la evolución de la microcirculación de estos pacientes con SB. Es necesario evaluar su utilidad a la hora de pronosticar qué pacientes tienen un mayor riesgo de presentar manifestaciones vasculares, al momento del diagnóstico, y así poder valorar tratamientos preventivos primarios, dada la elevada morbi-mortalidad que confieren estas complicaciones secundarias de la enfermedad.

Además, consideramos interesante y necesario evaluar nuevamente parámetros analíticos que ayuden o permitan diferenciar fenotipos clínicos de la enfermedad, en cohortes de mayor tamaño y diferente etnia. En esta línea, también sería interesante evaluar cambios temporales en los niveles del FvW y su utilidad como marcador de actividad de la enfermedad, más allá de su correlación con manifestaciones vasculares, que junto a la clínica de los pacientes, ayude en la toma de decisiones terapéuticas.



## **9. BIBLIOGRAFÍA**

1. Behçet H. Über rezidivierende, aphthöse, durch ein virus verursachte Geschwüre am Mund, am Auge und an den Genitalien. *Dermatol Wochenschr.* 1937;105(36):1152–7.
2. Behçet H. Considerations sur les lesions aphteuses de la bouche et des parties genitales, ainsi que sur les manifestations oculaires d'origine probablement virutique et observations concernant leur foyer d'infection. *Bull Soc Fr Dermatol Syphiligr.* 1938;45:420–33.
3. Behçet H. Some observations on the clinical picture of the so-called triple symptom complex. *Dermatologica (Basel).* 1940;81:73–83.
4. Behçet H. Einige Bemerkungen zu meinen Beobachtungen über den Tri-Symptomenkomplex. *Med Welt.* 1939;35:1222–7.
5. Adamantiades B. Sur un cas d'iritis á hypopion récidivant. *Ann Ocul.* 1931;164:271–278.
6. Tirilomis T. Some more historical notes on Adamantiades-Behçet's disease [5]. Vol. 120, *Chest.* 2001. p. 2115–6.
7. Feigenbaum A. Description of Behçet's syndrome in the Hippocratic third book of endemic diseases. *Br J Ophthalmol.* 1956;40(6):355–7.
8. Cheng TO. Some historical notes on Behçet's disease [6]. Vol. 119, *Chest.* 2001. p. 667–8.
9. Cheng TO, Tirilomis T. Behçet disease, Adamantiades-Behçet disease, or Hippocrates-Adamantiades-Behçet disease? [2] (multiple letters). Vol. 122, *Chest.* 2002. p. 381–2.
10. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 Revised International Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. In: *Arthritis and Rheumatism.* 2013. p. 1–11.
11. Criteria for diagnosis of Behçet's disease: International Study Group for Behçet's Disease. *Lancet.* 1990;335:1078–80.
12. Gül A. Behçet's disease as an autoinflammatory disorder. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005 Feb;4(1):81–3.
13. Yazici H, Fresko I. Behçet's disease and other autoinflammatory conditions: what's in a name? *Clin Exp Rheumatol.* 2005;23(4 (Suppl 38)):S1-2.
14. Gül A. Pathogenesis of behçet's disease: Autoinflammatory features and beyond. Vol. 37, *Seminars in Immunopathology.* 2015. p. 413–8.
15. Leccese P, Alpsoy E. Behçet's disease: An overview of etiopathogenesis. Vol. 10, *Frontiers in Immunology.* 2019.
16. Giza M, Koftori D, Chen L, Bowness P. Is Behçet's disease a 'class 1-opathy'? The role of HLA-B\*51 in the pathogenesis of Behçet's disease. *Clin Exp Immunol.* 2018 Jan 1;191(1):11–8.
17. Lin YH, Tai TY, Pu CY, Hwang DK, Chung YM, Chou YJ. Epidemiology of Behçet's Disease in Taiwan: A Population-Based Study. *Ophthalmic Epidemiol.* 2018 Jul 4;25(4):323–9.
18. Lee YB, Lee SY, Choi JY, Lee JH, Chae HS, Kim JW, et al. Incidence, prevalence, and mortality of Adamantiades-Behçet's disease in Korea: a nationwide, population-based study (2006–2015). *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2018 Jun 1;32(6):999–1003.
19. Kanecki K, Nitsch-Osuch A, Goryński P, Tarka P, Kutera A, Tyszko P. Behçet disease: A rare systemic vasculitis in Poland. *Polish Arch Intern Med.* 2017 Aug 23;127(10):652–6.
20. Akkoç N. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of Behçet's disease. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018;32(2):261–70.

21. Eiroa P, Sánchez J, Rosales M. Estudio epidemiológico de la enfermedad de Behçet en el área Sanitaria de La Coruña. *Rev Esp Reum.* 1991;(18):285–7.
22. González-Gay MA, García-Porrúa C, Brañas F, López-Lázaro L, Olivieri I. Epidemiologic and clinical aspects of Behçet's disease in a defined area of Northwestern Spain, 1988-1997. *J Rheumatol.* 2000;27(3):703–7.
23. Maldini C, Druce K, Basu N, LaValley MP, Mahr A. Exploring the variability in Behçet's disease prevalence: a meta-analytical approach. *Rheumatology (Oxford).* 2018 Jan 1;57(1):185–95.
24. Madanat WY, Alawneh KM, Smadi MM, Saadeh SS, Omari MM, Hani ABB, et al. The prevalence of Behçet's disease in the north of Jordan: A hospital-based epidemiological survey. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;35(6):S51–4.
25. Baş Y, Seçkin HY, Kalkan G, Takcı Z, Önder Y, Çıtıl R, et al. Investigation of Behçet's disease and recurrent aphthous stomatitis frequency: The highest prevalence in Turkey. *Balkan Med J.* 2016 Jul 1;33(4):390–5.
26. Peñafiel Burkhardt R, Callejas Rubio J-L, Jiménez Alonso J-F, Ortego Centeno N. Enfermedad de Behçet en España. *Med Clin (Barc).* 2007 May;128(18):717.
27. Zouboulis CC. Epidemiology of Adamantiades-Behçet's disease. Vol. 150, *Annales de Medecine Interne.* 1999. p. 488–98.
28. Gül A, Inanc M, Ocal L, Aral O, Konice M. Familial aggregation of Behçet's disease in Turkey. *Ann Rheum Dis.* 2000;59(8):622–5.
29. Ceylan Kalln Z, Sarlcaoğlu H, Yazıcı S, Aydoğan K, Bülbül Başkan E. Clinical and Demographical Characteristics of Familial Behçet's Disease (Southeast Marmara Region). *Dermatology.* 2019 Aug 1;235(5):407–12.
30. Kim JN, Kwak SG, Choe JY, Kim SK. The prevalence of Behçet's disease in Korea: Data from the Health Insurance Review and Assessment Service from 2011 to 2015. *Clin Exp Rheumatol.* 2017;35:S38–42.
31. Yazıcı H, Yurdakul S, Hamuryudan V. Behçet disease. *Curr Opin Rheumatol.* 2001;13(1):18–22.
32. Ahn HS, Kim HJ, Kazmi SZ, Kang T, Jun JB, Kang MJ, et al. Familial risk of Behçet's disease among first-degree relatives: A population-based aggregation study in Korea. *Rheumatol (United Kingdom).* 2021 Jun 1;60(6):2697–705.
33. Koné-Paut I, Geisler I, Wechsler B, Ozen S, Ozdogan H, Rozenbaum M, et al. Familial aggregation in Behçet's disease: High frequency in siblings and parents of pediatric probands. *J Pediatr.* 1999;135(1):89–93.
34. Takeuchi M, Kastner DL, Remmers EF. The immunogenetics of Behçet's disease: A comprehensive review. *J Autoimmun.* 2015 Nov 1;64:137–48.
35. Shamsul Islam SM, Sohn S. HSV-induced systemic inflammation as an animal model for Behçet's disease and therapeutic applications. Vol. 10, *Viruses.* 2018.
36. Sohn S, Lee E, Bang D. Learning from HSV-infected mice as a model of Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30(Suppl. 72):S96-103.
37. Lee S, Bang D, Cho YH, Lee ES, Sohn S. Polymerase chain reaction reveals herpes simplex virus DNA in saliva of patients with Behçet's disease. *Arch Dermatol Res.* 1996;288(4):179–83.
38. Eglin RP, Lehner T, Subak-Sharpe JH. Detection of RNA complementary to Herpes-Simplex Virus in mononuclear cells from patients with Behçet's Syndrome and recurrent oral ulcers. *Lancet.* 1982 Dec 18;320(8312):1356–61.
39. Togashi A, Saito S, Kaneko F, Nakamura K, Oyama N. Skin prick test with self-saliva in patients with oral aphthoses: A new diagnostic pathergy for behçet's disease and recurrent aphthosis. *Inflamm Allergy - Drug Targets.* 2011;10(3):164–70.

40. Lehner T. The role of heat shock protein, microbial and autoimmune agents in the aetiology of Behçet's disease. *Int Rev Immunol.* 1997;14(1):21–32.
41. Pineton de Chambrun M, Wechsler B, Geri G, Cacoub P, Saadoun D. New insights into the pathogenesis of Behçet's disease. Vol. 11, *Autoimmunity Reviews.* 2012. p. 687–98.
42. Tong B, Liu X, Xiao J, Su G. Immunopathogenesis of Behçet's disease. Vol. 10, *Frontiers in Immunology.* 2019.
43. Consolandi C, Turrone S, Emmi G, Severgnini M, Fiori J, Peano C, et al. Behçet's syndrome patients exhibit specific microbiome signature. Vol. 14, *Autoimmunity Reviews.* 2015. p. 269–76.
44. Yasar Bilge NS, Pérez Brocal V, Kasifoglu T, Bilge U, Kasifoglu N, Moya A, et al. Intestinal microbiota composition of patients with Behçet's disease: differences between eye, mucocutaneous and vascular involvement. *The Rheuma-BIOTA study.* *Clin Exp Rheumatol.* 2020;38 Suppl 1:S60–8.
45. Karacayli U, Mumcu G, Simsek I, Pay S, Kose O, Erdem H, et al. The close association between dental and periodontal treatments and oral ulcer course in behçet's disease: A prospective clinical study. *J Oral Pathol Med.* 2009 May;38(5):410–5.
46. Habibagahi Z, Khorshidi H, Hekmati S. Periodontal Health Status among Patients with Behçet's Disease. *Scientifica (Cairo).* 2016;2016.
47. Akman A, Kacaroglu H, Donmez L, Bacanli A, Alpsoy E. Relationship between periodontal findings and Behçet's disease: A controlled study. *J Clin Periodontol.* 2007 Jun;34(6):485–91.
48. Arabaci T, Kara C, Çiçek Y. Relationship between periodontal parameters and Behçet's disease and evaluation of different treatments for oral recurrent aphthous stomatitis. *J Periodontal Res.* 2009 Dec;44(6):718–25.
49. Mizushima Y, Matsuda T, Hoshi K, Ohno S. Induction of Behçet's disease symptoms after dental treatment and streptococcal antigen skin test. *J Rheumatol.* 1988 Jun;15:1029–30.
50. Coit P, Mumcu G, Ture-Ozdemir F, Unal AU, Alpar U, Bostanci N, et al. Sequencing of 16S rRNA reveals a distinct salivary microbiome signature in Behçet's disease. *Clin Immunol.* 2016 Aug 1;169:28–35.
51. Gül A. Genetics of Behçet's disease: Lessons learned from genomewide association studies. Vol. 26, *Current Opinion in Rheumatology.* 2014. p. 56–63.
52. Takeuchi M, Mizuki N, Meguro A, Ombrello MJ, Kirino Y, Satorius C, et al. Dense genotyping of immune-related loci implicates host responses to microbial exposure in Behçet's disease susceptibility. *Nat Genet.* 2017 Mar 1;49(3):438–43.
53. De Menthon M, LaValley MP, Maldini C, Guillevin L, Mahr A. HLA-B51/B5 and the risk of Behçet's disease: A systematic review and meta-analysis of case-control genetic association studies. Vol. 61, *Arthritis Care and Research.* 2009. p. 1287–96.
54. Yazici H, Fresko I, Yurdakul S. Behçet's syndrome: Disease manifestations, management, and advances in treatment. Vol. 3, *Nature Clinical Practice Rheumatology.* 2007. p. 148–55.
55. Kirino Y, Bertias G, Ishigatsubo Y, Mizuki N, Tugal-Tutkun I, Seyahi E, et al. Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behçet's disease and epistasis between HLA-B\*51 and ERAP1. *Nat Genet.* 2013 Feb;45(2):202–7.
56. Takeuchi M, Ombrello MJ, Kirino Y, Erer B, Tugal-Tutkun I, Seyahi E, et al. A

- single endoplasmic reticulum aminopeptidase-1 protein allotype is a strong risk factor for Behçet's disease in HLA-B\*51 carriers. *Ann Rheum Dis.* 2016 Dec 1;75(12):2208–11.
57. Guasp P, Barnea E, González-Escribano MF, Jiménez-Reinoso A, Regueiro JR, Admon A, et al. The Behçet's disease-associated variant of the aminopeptidase ERAP1 shapes a low-affinity HLA-B\*51 peptidome by differential subpeptidome processing. *J Biol Chem.* 2017 Jun 9;292(23):9680–9.
  58. Riahi P, Kazemnejad A, Mostafaei S, Meguro A, Mizuki N, Ashraf-Ganjouei A, et al. ERAP1 polymorphisms interactions and their association with Behçet's disease susceptibility: Application of model-based multifactor dimension reduction algorithm (MB-MDR). *PLoS One.* 2020 Feb 1;15(2).
  59. Sousa I, Shahram F, Francisco D, Davatchi F, Abdollahi BS adeg., Ghaderibarmi F, et al. Brief report: association of CCR1, KLRC4, IL12A-AS1, STAT4, and ERAP1 With Behçet's disease in Iranians. *Arthritis Rheumatol (Hoboken, NJ).* 2015 Oct 1;67(10):2742–8.
  60. Padula MC, Leccese P, Pellizzieri E, Padula AA, Gilio M, Carbone T, et al. Distribution of rs17482078 and rs27044 ERAP1 polymorphisms in a group of Italian Behçet's syndrome patients: a preliminary case–control study. *Intern Emerg Med.* 2019 Aug 1;14(5):713–8.
  61. Padula MC, Leccese P, Lascaro N, Carbone T, Limongi AR, Radice RP, et al. From structure to function for the characterization of ERAP1 active site in Behçet syndrome. A novel polymorphism associated with known gene variations. *Mol Immunol.* 2020 Jan 1;117:155–9.
  62. Conde-Jaldón M, Montes-Cano MA, García-Lozano JR, Ortiz-Fernández L, Ortego-Centeno N, González-León R, et al. Epistatic interaction of ERAP1 and HLA-B in behçet disease: A replication study in the Spanish population. *PLoS One.* 2014 Jul 14;9(7).
  63. López de Castro JA, Alvarez-Navarro C, Brito A, Guasp P, Martín-Esteban A, Sanz-Bravo A. Molecular and pathogenic effects of endoplasmic reticulum aminopeptidases ERAP1 and ERAP2 in MHC-I-associated inflammatory disorders: Towards a unifying view. Vol. 77, *Molecular Immunology.* 2016. p. 193–204.
  64. Kuranov AB, Kötter I, Henes JC, Abisheva ST, Steiert I, Riewerts F, et al. Behçet's disease in HLA-B\*51 negative Germans and Turks shows association with HLA-Bw4-80I. *Arthritis Res Ther.* 2014 May 26;16(3).
  65. Nakamura J, Meguro A, Ishii G, Mihara T, Takeuchi M, Mizuki Y, et al. The association analysis between HLA-A\*26 and Behçet's disease. *Sci Rep.* 2019 Dec 1;9(1).
  66. Ombrello MJ, Kirino Y, De Bakker PIW, Guí A, Kastner DL, Remmers EF. Behçet disease-associated MHC class I residues implicate antigen binding and regulation of cell-mediated cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014;111(24):8867–72.
  67. Hughes T, Coit P, Adler A, Yilmaz V, Aksu K, Düzgün N, et al. Identification of multiple independent susceptibility loci in the HLA region in Behçet's disease. *Nat Genet.* 2013 Mar;45(3):319–24.
  68. Morton LT, Situnayake D, Wallace GR. Genetics of behçet's disease. Vol. 28, *Current Opinion in Rheumatology.* 2016. p. 39–44.
  69. Alipour S, Nouri M, Sakhinia E, Samadi N, Roshanravan N, Ghavami A, et al. Epigenetic alterations in chronic disease focusing on Behçet's disease: Review. Vol. 91, *Biomedicine and Pharmacotherapy.* 2017. p. 526–33.

70. Eksioglu-Demiralp E, Direskeneli H, Kibaroglu A, Yavuz S, Ergun T, Akoglu T. Neutrophil activation in Behçet's disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2001;19(5Suppl):S19-24.
71. Becatti M, Emmi G, Silvestri E, Bruschi G, Ciucciarelli L, Squatrito D, et al. Neutrophil Activation Promotes Fibrinogen Oxidation and Thrombus Formation in Behçet Disease. *Circulation*. 2016 Jan 19;133(3):302–11.
72. Do JE, Kwon SY, Park S, Lee ES. Effects of vitamin D on expression of Toll-like receptors of monocytes from patients with Behçet's disease. *Rheumatology*. 2008 Jun;47(6):840–8.
73. Yamaguchi Y, Takahashi H, Satoh T, Okazaki Y, Mizuki N, Takahashi K, et al. Natural killer cells control a T-helper 1 response in patients with Behçet's disease. *Arthritis Res Ther*. 2010 May 11;12(3).
74. Kucuksezer U, Aktas-cetin E, Bilgic-Gazioglu S, Tugal-Tutkun I, Gül A, Deniz G. Natural killer cells dominate a Th-1 polarized response in Behçet's disease patients with uveitis. *Clin Exp Rheumatol*. 2015;33(6 Suppl):S24-29.
75. Talaat RM, Ashour ME, Bassyouni IH, Raouf AA. Polymorphisms of interleukin 6 and interleukin 10 in Egyptian people with Behcet's disease. *Immunobiology*. 2014;219(8):573–82.
76. Chi W, Zhu X, Yang P, Liu X, Lin X, Zhou H, et al. Upregulated IL-23 and IL-17 in Behçet patients with active uveitis. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2008 Jul;49(7):3058–64.
77. Chi W, Zhou S, Yang P, Chen L. CD4<sup>+</sup> T cells from behcet patients produce high levels of IL-17. *Eye Sci*. 2011 Jun 1;26(2):65–9.
78. Greco A, De Virgilio A, Ralli M, Ciofalo A, Mancini P, Attanasio G, et al. Behçet's disease: New insights into pathophysiology, clinical features and treatment options. Vol. 17, *Autoimmunity Reviews*. 2018. p. 567–75.
79. Cho S, Zheng Z, Cho S Bin, Choi MJ, Lee KH, Bang D. Streptococcus sanguinis and the sera of patients with Behçet's disease stimulate membrane expression of  $\alpha$ -enolase in human dermal microvascular endothelial cells. *Arch Dermatol Res*. 2013 Apr;305(3):223–32.
80. Bassyouni IH, Gamal S, Talaat RM, Siam I. Autoantibodies against complement C1q in patients with Behcet's disease: association with vascular involvement. *Mod Rheumatol*. 2013 Apr 7;24(2):316–20.
81. Islam MA, Alam SS, Kundu S, Safayet Ullah Prodhah AHM, Khandker SS, Reshetnyak T, et al. Prevalence of antiphospholipid antibodies in Behçet's disease: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2020 Jan 1;15(1).
82. Esalatmanesh K, Jamshidi A, Shahram F, Davatchi F, Masoud SA, Soleimani Z, et al. Study of the correlation of serum selenium level with Behcet's disease. *Int J Rheum Dis*. 2011 Oct;14(4):375–8.
83. Okunuki Y, Usui Y, Takeuchi M, Kezuka T, Hattori T, Masuko K, et al. Proteomic surveillance of autoimmunity in Behcet's disease with uveitis: Selenium binding protein is a novel autoantigen in Behcet's disease. *Exp Eye Res*. 2007 May;84(5):823–31.
84. Takeuchi M, Usui Y, Okunuki Y, Zhang L, Ma J, Yamakawa N, et al. Immune responses to interphotoreceptor retinoid-binding protein and s-antigen in behçet's patients with uveitis. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2010 Jun;51(6):3067–75.
85. Zhao C, Yang P, He H, Lin X, Du L, Zhou H, et al. Retinal S-antigen Th1 cell epitope mapping in patients with Behcet's disease. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009;247(4):555–60.
86. Perazzio SF, Andrade LEC, de Souza AWS. Understanding Behçet's Disease in



- the Context of Innate Immunity Activation. Vol. 11, *Frontiers in Immunology*. 2020.
87. Ahn JK, Cha HS, Bae EK, Lee J, Koh EM. Extracellular high-mobility group box 1 is increased in patients with behçet's disease with intestinal involvement. *J Korean Med Sci*. 2011 May;26(5):697–700.
  88. Han EC, Cho S Bin, Ahn KJ, Oh SH, Kim J, Kim DS, et al. Expression of pro-inflammatory protein S100A12 (EN-RAGE) in Behçet's disease and its association with disease activity: A pilot study. *Ann Dermatol*. 2011 Aug;23(3):313–20.
  89. Seyahi E, Karaaslan H, Ugurlu S, Yazici H. Fever in Behçet's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(SUPPL.77).
  90. Alpsoy E, Zouboulis C, Ehrlich GE. Mucocutaneous lesions of Behçet's disease. Vol. 48, *Yonsei Medical Journal*. 2007. p. 573–85.
  91. Uva L, Miguel D, Pinheiro C, Filipe P, Freitas JP. Mucocutaneous manifestations of Behçet's disease. *Acta Reum Port*. 2013;38(2):77–90.
  92. Scherrer MAR, Rocha VB, Garcia LC. Behçet's disease: Review with emphasis on dermatological aspects. Vol. 92, *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2017. p. 452–64.
  93. Mendes D, Correia M, Barbedo M, Vaio T, Mota M, Gonçalves O, et al. Behçet's disease - a contemporary review. *J Autoimmun*. 2009;32(3–4):178–88.
  94. Sakane T, Takeno M, Suzuki N, Inaba G. Behçet's Disease. *N Engl J Med*. 1999 Oct 21;341(17):1284–91.
  95. Davatchi F, Assaad-Khalil S, Calamia KT, Crook JE, Sadeghi-Abdollahi B, Schirmer M, et al. The International Criteria for Behçet's Disease (ICBD): A collaborative study of 27 countries on the sensitivity and specificity of the new criteria. *J Eur Acad Dermatology Venereol*. 2014 Mar;28(3):338–47.
  96. Castaño-Núñez Á, Montes-Cano MA, García-Lozano JR, Ortego-Centeno N, García-Hernández FJ, Espinosa G, et al. Association of Functional Polymorphisms of KIR3DL1/DS1 With Behçet's Disease. *Front Immunol*. 2019 Nov 29;10.
  97. Seyahi E, Yurdakul S. Behçet's Syndrome and Thrombosis. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2011;3(1):e2011026.
  98. Alpsoy E. Behçet's disease: A comprehensive review with a focus on epidemiology, etiology and clinical features, and management of mucocutaneous lesions. Vol. 43, *Journal of Dermatology*. 2016. p. 620–32.
  99. Saadoun D, Wechsler B. Behçet's disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7(1):7–20.
  100. Kidd DP. Neurological complications of Behçet's syndrome. *J Neurol*. 2017 Oct 1;264(10):2178–83.
  101. Kim DH, Kim SW, Yeo SM, Kang MS, Yoon YC, Sung DH. Focal vasculitic myositis as a primary manifestation of Behçet's disease: A case series of 10 Korean patients in a locomotive medicine clinic. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2021 Oct 2;60(10):4609–15.
  102. Ksaa I, Abroug N, Kechida M, Zina S, Jelliti B, Khochtali S, et al. Eye and Behçet's disease. Vol. 42, *Journal Francais d'Ophtalmologie*. 2019. p. e133–46.
  103. Marshall SE. Behçet's disease. Vol. 18, *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*. 2004. p. 291–311.
  104. Hatemi I, Hatemi G, Çelik AF. Gastrointestinal Involvement in Behçet Disease. Vol. 44, *Rheumatic Disease Clinics of North America*. 2018. p. 45–64.
  105. Skef W, Hamilton MJ, Arayssi T. Gastrointestinal behçet's disease: A review. Vol. 21, *World Journal of Gastroenterology*. 2015. p. 3801–12.

106. Ebert EC. Gastrointestinal manifestations of behçet's Disease. Vol. 54, Digestive Diseases and Sciences. 2009. p. 201–7.
107. Wu QJ, Zhang FC, Zhang X. Adamantiades-Behçet's disease-complicated gastroenteropathy. Vol. 18, World Journal of Gastroenterology. 2012. p. 609–15.
108. Bolek EC, Sari A, Kilic L, Kalyoncu U, Kurne A, Oguz KK, et al. Clinical features and disease course of neurological involvement in Behçet's disease: HUVAC experience. *Mult Scler Relat Disord*. 2020 Feb 1;38.
109. Akman-Demir G, Serdaroglu P, Taşçi B. Clinical patterns of neurological involvement in Behçet's disease: Evaluation of 200 patients. *Brain*. 1999 Nov;122(11):2171–81.
110. Saip S, Akman-Demir G, Siva A. Neuro-Behçet syndrome. In: *Handbook of Clinical Neurology*. 2014. p. 1703–23.
111. Liu HM, Dong C, Zhang YZ, Tian YY, Chen HX, Zhang S, et al. Clinical and imaging features of spinal cord type of neuro Behçet disease: A case report and systematic review. Vol. 96, *Medicine (United States)*. 2017.
112. Uygunoğlu U, Siva A. Nervous system involvement in Behçet's syndrome. Vol. 31, *Current opinion in rheumatology*. 2019. p. 32–9.
113. Yazici H, Esen F. Mortality in Behçet's syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2008 Sep;26(5 SUPPL. 51).
114. Mat MC, Sevim A, Fresko I, Tüzün Y. Behçet's disease as a systemic disease. Vol. 32, *Clinics in Dermatology*. 2014. p. 435–42.
115. Rodríguez-Carballeira M, Solans R, Larrañaga JR, García-Hernández FJ, Rios-Fernández R, Nieto J, et al. Venous thrombosis and relapses in patients with Behçet's disease. Descriptive analysis from Spanish network of Behçet's disease (REGEB cohort). *Clin Exp Rheumatol*. 2018;36(6 Suppl):40–4.
116. Calamia KT, Schirmer M, Melikoglu M. Major vessel involvement in Behçet's disease: An update. *Curr Opin Rheumatol*. 2011 Jan;23(1):24–31.
117. Balta S, Balta I, Ozturk C, Celik T, Iyisoy A. Behçet's disease and risk of vascular events. Vol. 31, *Current Opinion in Cardiology*. 2016. p. 451–7.
118. Tascilar K, Melikoglu M, Ugurlu S, Sut N, Caglar E, Yazici H. Vascular involvement in behçet's syndrome: a retrospective analysis of associations and the time course. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2014 Jul 28;53(11):2018–21.
119. Ozguler Y, Hatemi G, Cetinkaya F, Tascilar K, Hamuryudan V, Ugurlu S, et al. Clinical course of acute deep vein thrombosis of the legs in Behçet's syndrome. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2020 Apr 1;59(4):799–806.
120. Emmi G, Bettiol A, Silvestri E, Di Scala G, Becatti M, Fiorillo C, et al. Vascular Behçet's syndrome: an update. Vol. 14, *Internal and Emergency Medicine*. 2019. p. 645–52.
121. Seyahi E, Yazici H. Behçet's syndrome: Pulmonary vascular disease. Vol. 27, *Current Opinion in Rheumatology*. 2015. p. 18–23.
122. Adams TN, Zhang D, Batra K, Fitzgerald JE. Pulmonary manifestations of large, medium, and variable vessel vasculitis. Vol. 145, *Respiratory Medicine*. 2018. p. 182–91.
123. Tani K, Katoh K, Ishigatsubo Y, Ohokubo T. Pathologic features of Behçet's syndrome: A review of Japanese autopsy registry data. Vol. 16, *Human Pathology*. 1985. p. 790–5.
124. Erkan F, Gül A, Tasali E. Pulmonary manifestations of Behçet's disease. Vol. 56, *Thorax*. 2001. p. 572–8.
125. Edrees A, Naguib S, El Menyawi M, Ismail I, Nagah H. Pulmonary manifestations in a group of patients with Behçet's disease. *Int J Rheum Dis*.

- 2017 Feb 1;20(2):269–75.
126. Khalid U, Saleem T. Hughes-stovin syndrome. Vol. 6, Orphanet Journal of Rare Diseases. 2011.
  127. Ozguler Y, Leccese P, Christensen R, Esatoglu SN, Bang D, Bodaghi B, et al. Management of major organ involvement of Behçet's syndrome: A systematic review for update of the EULAR recommendations. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2018 Dec 1;57(12):2200–12.
  128. Hatemi G, Christensen R, Bang D, Bodaghi B, Celik AF, Fortune F, et al. 2018 Update of the EULAR recommendations for the management of Behçet's syndrome. *Ann Rheum Dis*. 2018 Jun 1;77(6):808–18.
  129. Leccese P, Ozguler Y, Christensen R, Esatoglu SN, Bang D, Bodaghi B, et al. Management of skin, mucosa and joint involvement of Behçet's syndrome: A systematic review for update of the EULAR recommendations for the management of Behçet's syndrome. *Semin Arthritis Rheum*. 2019 Feb 1;48(4):752–62.
  130. Savey L, Resche-Rigon M, Wechsler B, Comarmond C, Piette JC, Cacoub P, et al. Ethnicity and association with disease manifestations and mortality in Behçet's disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2014 Mar 27;9(1):42.
  131. Krause I, Mader R, Sulkes J, Paul M, Uziel Y, Adawi M, et al. Behçet's disease in Israel: the influence of ethnic origin on disease expression and severity. *J Rheumatol*. 2001 May;28(5):1033–6.
  132. Rozenbaum M, Boulman N, Slobodin G, Zisman D, Mader R, Yankevitch A, et al. Behcet Disease in Adult Druzes in North Israel. *JCR J Clin Rheumatol*. 2007 Jun;13(3):124–7.
  133. Saadoun D, Wechsler B, Desseaux K, Le Thi Huong D, Amoura Z, Resche-Rigon M, et al. Mortality in Behçet's disease. *Arthritis Rheum*. 2010 Sep;62(9):2806–12.
  134. Kobayashi M, Ito M, Nakagawa A, Matsushita M, Nishikimi N, Sakurai T, et al. Neutrophil and endothelial cell activation in the vasa vasorum in vasculo-Behcet disease. *Histopathology*. 2000;36(4):362–71.
  135. Hirohata S. Histopathology of central nervous system lesions in Behçet's disease. *J Neurol Sci*. 2008 Apr 15;267(1–2):41–7.
  136. Chamorro AJ, Marcos M, Hernández-García I, Calvo A, Mejia JC, Cervera R, et al. Association of allelic variants of factor V Leiden, prothrombin and methylenetetrahydrofolate reductase with thrombosis or ocular involvement in Behçet's disease: A systematic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev*. 2013 Mar;12(5):607–16.
  137. Ozoran K, Dügün N, Gürler A, Tutkak H, Tokgöz G. Plasma von Willebrand factor, tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor, and antithrombin III levels in Behçet's disease. *Scand J Rheumatol*. 1995;24(6):376–82.
  138. Probst K, Fijnheer R, Rothova A. Endothelial cell activation and hypercoagulability in ocular Behçet's disease. *Am J Ophthalmol*. 2004 May;137(5):850–7.
  139. Fernández-Bello I, López-Longo FJ, Arias-Salgado EG, Jiménez-Yuste V, Butta N V. Behçet's disease: new insight into the relationship between procoagulant state, endothelial activation/damage and disease activity. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8(1).
  140. Butta N V., Fernández-Bello I, López-Longo FJ, Jiménez-Yuste V. Endothelial Dysfunction and Altered Coagulation As Mediators of Thromboembolism in

- Behçet Disease. *Semin Thromb Hemost*. 2015 Aug 15;41(6):621–8.
141. von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, et al. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *J Exp Med*. 2012 Apr 9;209(4):819–35.
  142. Turner N, Nolasco L, Nolasco J, Sartain S, Moake J. Thrombotic microangiopathies and the linkage between von Willebrand factor and the alternative complement pathway. *Semin Thromb Hemost*. 2014;40(5):544–50.
  143. El Boghdady NA, Shaker OG. Role of Serum miR-181b, Proinflammatory Cytokine, and Adhesion Molecules in Behçet’s Disease. *J Interferon Cytokine Res*. 2019 Jun 1;39(6):347–54.
  144. Kose O, Stewart J, Waseem A, Lalli A, Fortune F. Expression of cytokeratins, adhesion and activation molecules in oral ulcers of Behçet’s disease. *Clin Exp Dermatol*. 2008 Jan;33(1):62–9.
  145. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2000;27(1):155–60.
  146. Cutolo M, Pizzorni C, Tuccio M, Burrioni A, Craviotto C, Basso M, et al. Nailfold videocapillaroscopic patterns and serum autoantibodies in systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*. 2004 Jun;43(6):719–26.
  147. Pavlov-Dolijanovic S, Damjanov NS, Stojanovic RM, Vujasinovic Stupar NZ, Stanisavljevic DM. Scleroderma pattern of nailfold capillary changes as predictive value for the development of a connective tissue disease: a follow-up study of 3,029 patients with primary Raynaud’s phenomenon. *Rheumatol Int*. 2012 Oct;32(10):3039–45.
  148. Van Den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: An American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(11):1747–55.
  149. Soubrier C, Segulier J, Di Costanzo MP, Ebbo M, Bernit E, Jean E, et al. Nailfold videocapillaroscopy alterations in dermatomyositis, antisynthetase syndrome, overlap myositis, and immune-mediated necrotizing myopathy. *Clin Rheumatol*. 2019 Dec 1;38(12):3451–8.
  150. Cutolo M, Melsens K, Wijnant S, Ingegnoli F, Thevissen K, De Keyser F, et al. Nailfold capillaroscopy in systemic lupus erythematosus: A systematic review and critical appraisal. *Autoimmun Rev*. 2018 Apr 1;17(4):344–52.
  151. Ciaffi J, Ajasllari N, Mancarella L, Brusi V, Meliconi R, Ursini F. Nailfold capillaroscopy in common non-rheumatic conditions: A systematic review and applications for clinical practice. *Microvasc Res*. 2020 Sep 1;131.
  152. Bertolazzi C, Gallegos-Nava S, Villarreal-Treviño AV, Alfaro-Rodriguez A, Clavijo-Cornejo D, Gutierrez M. The current role of capillaroscopy in vasculitides. *Clin Rheumatol*. 2019 Sep 1;38(9):2299–307.
  153. Keret S, Mazzawi J, Slobodin G, Rimar O, Rosner I, Rozenbaum M, et al. Nailfold video capillaroscopy as a useful diagnostic tool in systemic vasculitis. *Microvasc Res*. 2022 Sep;143:104406.
  154. Wechsler B, Le T, Mouthon J, Cabane J, Godeau P. Periungual capillaroscopic aspects in Behçet’s disease. Apropos of 30 cases. *Ann Dermatol Venereol*. 1984;111(6-7):543–50.
  155. Vaiopoulos G, Pangratis N, Samarkos M, Hatzinicolaou P, Mavropoulos S, Tzonou A, et al. Nailfold capillary abnormalities in Behçet’s disease. *J Rheumatol*. 1995;22(6):1108–11.

156. Movasat A, Shahram F, Carreira PE, Nadji A, Akhlaghi M, Naderi N, et al. Nailfold capillaroscopy in Behçet's disease, analysis of 128 patients. *Clin Rheumatol.* 2009;28(5):603–5.
157. Aytekin S, Yuksel EP, Aydin F, Senturk N, Ozden MG, Canturk T, et al. Nailfold capillaroscopy in Behçet disease, performed using videodermoscopy. *Clin Exp Dermatol.* 2014;39(4):443–7.
158. Pasqui A, Pastorelli M, Puccetti L, Beerman U, Biagi F, Camarri A, et al. Microvascular assessment in Behçet disease: videocapillaroscopic study. *Int J Tissue React.* 2003;25(3):105–15.
159. Ocampo-Garza SS, Villarreal-Alarcón MA, Villarreal-Treviño A V., Ocampo-Candiani J. Capillaroscopy: A Valuable Diagnostic Tool. *Actas Dermosifiliogr.* 2019 Jun 1;110(5):347–52.
160. Beyan E, Sadikoğlu B, Ertuğrul E, Beyan C. Von Willebrand factor antigen levels in Behçet disease. *Am J Hematol.* 2005 May;79(1):70–2.
161. Yazici H, Hekim N, Ozbakir F, Yurdakul S, Tüzün Y, Pazarli H, et al. Von Willebrand factor in Behçet's syndrome. *J Rheumatol.* 1987 Apr;14(2):305–6.
162. Franchini M, Marano G, Vaglio S, Catalano L, Pupella S, Liumbruno GM. The Role of ABO Blood Type in Thrombosis Scoring Systems. *Semin Thromb Hemost.* 2017 Jul 1;43(5):525–9.
163. Michels A, Lillicrap D, Yacob M. Role of von Willebrand factor in venous thromboembolic disease. *JVS-vascular Sci.* 2021;3:17–29.
164. Vasan SK, Rostgaard K, Majeed A, Ullum H, Titlestad KE, Pedersen OBV, et al. ABO Blood Group and Risk of Thromboembolic and Arterial Disease: A Study of 1.5 Million Blood Donors. *Circulation.* 2016 Apr 12;133(15):1449–57.
165. Dentali F, Sironi A, Ageno W, Turato S, Bonfanti C, Frattini F, et al. Non-O blood type is the commonest genetic risk factor for VTE: results from a meta-analysis of the literature. *Semin Thromb Hemost.* 2012;38(5):535–47.
166. Gándara E, Kovacs MJ, Kahn SR, Wells PS, Anderson DA, Chagnon I, et al. Non-OO blood type influences the risk of recurrent venous thromboembolism. A cohort study. *Thromb Haemost.* 2013 Sep 26;110(6):1172–9.
167. Ward SE, O'Sullivan JM, O'Donnell JS. The relationship between ABO blood group, von Willebrand factor, and primary hemostasis. *Blood.* 2020 Dec 17;136(25):2864–74.
168. Turner N, Sartain S, Moake J. Ultralarge Von Willebrand Factor-Induced Platelet Clumping and Activation of the Alternative Complement Pathway in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura and the Hemolytic-Uremic Syndromes. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2015 Jun 1;29(3):509–24.
169. Karpman D, Ståhl AL, Arvidsson I, Johansson K, Loos S, Tati R, et al. Complement Interactions with Blood Cells, Endothelial Cells and Microvesicles in Thrombotic and Inflammatory Conditions. *Adv Exp Med Biol.* 2015;865:19–42.
170. Chimenti MS, Ballanti E, Triggianese P, Perricone R. Vasculitides and the Complement System: a Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2015 Dec 1;49(3):333–46.
171. Moiseev S, Lee JM, Zykova A, Bulanov N, Novikov P, Gitel E, et al. The alternative complement pathway in ANCA-associated vasculitis: further evidence and a meta-analysis. *Clin Exp Immunol.* 2020 Dec 1;202(3):394–402.
172. Chen M, Jayne DRW, Zhao MH. Complement in ANCA-associated vasculitis: mechanisms and implications for management. *Nat Rev Nephrol.* 2017 Jun 1;13(6):359–67.

173. Hartert H. [Blood clotting studies with Thrombus stressography; a new Investigation procedure]. *Klin Wochenschr.* 1948 Oct;26(37–38):577–83.
174. Whiting D, Dinardo JA. TEG and ROTEM: technology and clinical applications. *Am J Hematol.* 2014 Feb 1;89(2):228–32.
175. Horie Y, Meguro A, Ohta T, Lee EB, Namba K, Mizuuchi K, et al. HLA-B51 Carriers are Susceptible to Ocular Symptoms of Behçet Disease and the Association between the Two Becomes Stronger towards the East along the Silk Road: A Literature Survey. *Ocul Immunol Inflamm.* 2017 Jan 2;25(1):37–40.
176. Krause L, Köhler AK, Altenburg A, Papoutsis N, Zouboulis CC, Pleyer U, et al. Ocular involvement is associated with HLA-B51 in Adamantiades- Behçet's disease. *Eye.* 2009;23(5):1182–6.
177. Maldini C, Lavalley MP, Cheminant M, de menthon M, Mahr A. Relationships of HLA-B51 or B5 genotype with Behçet's disease clinical characteristics: Systematic review and meta-analyses of observational studies. *Rheumatology.* 2012 May;51(5):887–900.
178. Torgutalp M, Sahin Eroglu D, Sezer S, Yayla ME, Karatas G, Uslu Yurteri E, et al. Analysis of vascular involvement in 460 patients with Behçet's syndrome: Clinical characteristics and associated factors. *Jt bone spine.* 2022 Mar 1;89(2).
179. Kaya TI, Tursten U, Gurler A, Dur H. Association of class I HLA antigens with the clinical manifestations of Turkish patients with Behçet's disease. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27(6):498–501.
180. Islam MA, Alam SS, Kundu S, Safayet Ullah Prodhah AHM, Khandker SS, Reshetnyak T, et al. Prevalence of antiphospholipid antibodies in Behçet's disease: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2020 Jan 1;15(1).
181. Sucker C, Tharra K, Litmathe J, Scharfv RE, Zotz RB. Rotation thromboelastography (ROTEM) parameters are influenced by age, gender, and oral contraception. *Perfusion.* 2011 Jul;26(4):334–40.
182. Mezalek ZT, Khibri H, Chadli S, Fari S El, Ammouri W, Harmouche H, et al. Vascular complications of Behçet disease. *Minerva Med.* 2021;112(6):767–78.
183. Kara Kivanc B, Gönüllü E, Akay OM, Ertürk A, Bal C, Cansu DÜ, et al. Why are male patients with Behçet's disease prone to thrombosis? A rotational thromboelastographic analysis. *Clin Exp Rheumatol.* 2018 Nov 1;36(6):63–7.
184. Demirer S, Şengül N, Yerdel MA, Tüzüner A, Ulus AT, Gürler A, et al. Haemostasis in patients with Behcet's disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2000;19(6):570–4.
185. Mejía JC, Espinosa G, Tàssies D, Reverter JC, Cervera R. Endogenous thrombin potential in Behçet's disease: Relationship with thrombosis and anticoagulant therapy. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32:S67–71.
186. Descobreix quins són els grups sanguinis més freqüents - Blog Banc de Sang i Teixits [Internet]. Available from: <https://www.bancsang.net/blog/descobreix-quins-son-els-grups-sanguinis-mes-freqvents/>
187. Beyan E, Sadikoğlu B, Ertuğrul E, Beyan C. Von Willebrand factor antigen levels in Behçet disease. *Am J Hematol.* 2005 May;79(1):70–2.
188. Jongen PJH, Daelmans HEM, Bruneel B, Den Hartog MR. Humoral and cellular immunologic study of cerebrospinal fluid in a patient with Behçet encephalitis. *Arch Neurol.* 1992;49(10):1075–8.
189. Bardak Y, Aridoğan BC. The demonstration of serum interleukin 6-8, tumor necrosis factor-alpha, complement, and immunoglobulin levels in Behçet's disease with ocular involvement. *Ocul Immunol Inflamm.* 2004 Mar;12(1):53–8.
190. Tüzün E, Kürtüncü M, Türkoğlu R, İçöz S, Pehlivan M, Birişik Ö, et al.

Enhanced complement consumption in neuromyelitis optica and Behçet's disease patients. *J Neuroimmunol.* 2011 Apr;233(1-2):211-5.





## **10. ANEXO**

Tabla 12.1. Análisis de los parámetros de ROTEM, niveles de factor VIII y FvW de la coagulación, moléculas de adhesión y complemento en relación con el sexo y rango de normalidad según la prueba utilizada.

Variable	Hombre	Mujer	Significación (p)	Rango de normalidad
<b>NATEM</b>				
CT, s	585,87 ± 114,43	573 ± 110,48	0,69	300-1000
CFT, s	184,5 (146,75-201)	148 (106-188)	0,022	150-700
Ángulo α, °	56,6 ± 6,71	62,11 ± 7,18	0,009	30-70
MCF, mm	58,3 ± 4,55	60,74 ± 4,34	0,07	40-65
<b>INTEM</b>				
CT, s	210,63 ± 19,42	204,84 ± 22,19	0,34	100-240
CFT, s	90 (80,75-116,5)	82 (70-94)	0,025	30-110
Ángulo α, °	72 (67-73,25)	73 (71-75)	0,03	70-83
MCF, mm	62,23 ± 4,28	65,42 ± 3,33	0,008	50-72
<b>EXTEM</b>				
CT, s	85 (74,75-90)	77 (71-80)	0,017	38-79
CFT, s	113 (97,75-139,75)	99 (90-113)	0,029	34-159
Ángulo α, °	67,5 (62,75-70,25)	70 (67-72)	0,024	63-83
MCF, mm	60,5 (58,75-65)	64 (63-66)	0,01	50-72
FVIII (%)	147,1 (113,02-180,65)	169,8 (146,7-182,5)	0,119	50-150
FvW (%)	137,95 ± 55,71	141,38 ± 38,05	0,79	45,6-176,3
E-selectina (pg/mL)	27.275 (20.544,25-38243,5)	26.807 (22.800-31.861)	0,74	11.298-49.085
VCAM-1 (pg/mL)	596.850,5 (520.955,7-700.129,5)	572.135 (490.899-811.732)	0,96	321.648-879.975
ICAM-1 (pg/mL)	393.136,5 (326.583-459.536)	411.983 (343.732-517.323)	0,26	160.056-473.867
C3 (mg/dL)	125,02 ± 20	123,42 ± 20,83	0,79	85-180
C4 (mg/dL)	25,78 ± 6,51	28,34 ± 8,91	0,25	10-40
C5b9s (ng/mL)	216,5 (169,6-249,5)	253 (232-326)	0,035	127-303

Los resultados están expresados en media ± DE o mediana y rango (percentil 25%-75%), según su distribución normal o no.

Tabla 12.2. Análisis de los parámetros de ROTEM, niveles de factor VIII y FvW de la coagulación, moléculas de adhesión y complemento en relación con la edad al momento del estudio y los valores de normalidad.

Variable	<51 años	≥51 años	Significación (p)	Rango de normalidad
<b>NATEM</b>				
CT, s	598,87 ± 129,42	552,47 ± 70,93	0,113	300-1000
CFT, s	188 (143,75-208)	150 (125-182)	0,049	150-700
Ángulo α, °	57,3 ± 7,47	61 ± 6,72	0,086	30-70
MCF, mm	58,63 ± 4,44	60,21 ± 4,76	0,24	40-65
<b>INTEM</b>				
CT, s	214,5 ± 20,84	198,74 ± 16,16	0,007	100-240
CFT, s	90 (80-105)	84 (69-116)	0,28	30-110
Ángulo α, °	72 (69-74)	73 (67-76)	0,31	70-83
MCF, mm	63,03 ± 3,94	64,16 ± 4,62	0,36	50-72
<b>EXTEM</b>				
CT, s	84,5 (75,75-88)	76 (71-81)	0,035	38-79
CFT, s	106,5 (96-131,75)	105 (90-134)	0,71	34-159
Ángulo α, °	68,5 (64-71)	69 (64-72)	0,67	63-83
MCF, mm	63 (59,75-65)	63 (59-66)	0,71	50-72
FVIII (%)	144,95 (113,02-164,92)	180,2 (149-199)	0,005	50-150
FvW (%)	129,23 ± 51,28	155,15 ± 42,24	0,072	45,6-176,3
E-selectina (pg/mL)	29.521 (20.544,25-37.885)	25.117 (21.545-35.883)	0,69	11.298-49.085
VCAM-1 (pg/mL)	564.783 (511.513,75-666.239)	635.199 (490.899-851.558)	0,21	321.648-879.975
ICAM-1 (pg/mL)	399.271 (331.843,25-469.795,75)	393.975 (333.848-503.973)	0,74	160.056-473.867
C3 (mg/dL)	120,77 ± 17,17	130,13 ± 23,42	0,114	85-180
C4 (mg/dL)	24,27±5,17	30,73 ± 9,05	0,009	10-40
C5b9s (ng/mL)	228,15 (162,92-249,5)	278,5 (199,9-326)	0,031	127-303

Los resultados están expresados en media ± DE o mediana y rango (percentil 25%-75%), según su distribución normal o no.

Tabla 12.3. Análisis de los parámetros de ROTEM, niveles de factor VIII y FvW de la coagulación, moléculas de adhesión y complemento y su correlación con el grupo sanguíneo A y los valores de normalidad.

Variable	Grupo sanguíneo		Significación (p)	Rango de normalidad
	A	No A		
<b>NATEM</b>				
CT, s	572,18 ± 107,48	587,96 ± 116,97	0,62	300-1000
CFT, s	149,5 (121,25-192,25)	183 (144-207)	0,13	150-700
Ángulo α, °	60,5 ± 7,06	57,3 ± 7,38	0,13	30-70
MCF, mm	59,27 ± 5,24	59,22 ± 4,07	0,97	40-65
<b>INTEM</b>				
CT, s	202,5 ± 21,2	213,19 ± 18,98	0,069	100-240
CFT, s	88 (70-100,25)	90 (79-108)	0,38	30-110
Ángulo α, °	72,5 (70,25-75,25)	72 (69-74)	0,35	70-83
MCF, mm	63,68 ± 4,68	63,3 ± 3,86	0,75	50-72
<b>EXTEM</b>				
CT, s	77,5 (71-88,5)	81 (76-87)	0,56	38-79
CFT, s	105,5 (90,75-131,75)	107 (96-134)	0,99	34-159
Ángulo α, °	69 (64-72)	68 (64-71)	0,91	63-83
MCF, mm	63,5 (58,75-65,25)	63 (60-65)	0,85	50-72
FVIII (%)	178,4 (142,35-199,82)	149 (116,3-171,5)	0,026	50-150
FvW (%)	154,55 ± 48,09	126,83 ± 47,35	0,049	45,6-176,3
E-selectina (pg/mL)	24.732 (18.669,25-29.982,25)	31.861 (24.621-39.538)	0,007	11.298-49.085
VCAM-1 (pg/mL)	611.643 (488.018,5-804.412,75)	581.124 (513.548-656.142)	0,68	321.648-879.975
ICAM-1 (pg/mL)	382.656 (333.771-521.788,75)	411.983 (327.059-479.415)	0,68	160.056-473.867
C3 (mg/dL)	121,86 ± 21,68	126,47 ± 18,93	0,43	85-180
C4 (mg/dL)	27,96 ± 9,17	25,81 ± 5,92	0,34	10-40
C5b9s (ng/mL)	231,5 (185,6-286,95)	234,6 (155,5-305)	0,92	127-303

Los resultados están expresados en media ± DE o mediana y rango (percentil 25%-75%), según su distribución normal o no.

