

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE HIDALGO
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS Y BIOLOGICAS "DR IGNACIO CHAVEZ"
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO



BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS
REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLINICA, TRATAMIENTO Y
SINDROME METABOLICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS DE LA SALUD

PRESENTA:

MED CIRG PART ADRIANA RIVERA GARIBAY

DIRECTORES DE TESIS:

D en C MARTHA EVA VIVEROS SANDOVAL

DR MARIO H CARDIEL RÍOS

MORELIA, MICHOACÁN, JULIO 2011.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ÍNDICE GENERAL

Abreviaturas.....	5, 6
Resumen.....	7
Abstract.....	8
1.-Introducción.....	9
2.-Marco Teórico.....	10
2.1.- Antecedentes.....	10
2.2.-Articulaciones sinoviales.....	10- 12
2.3.-Fisiopatología de Artritis Reumatoide.....	13, 14
2.4.-Manifestaciones clínicas.....	14
2.5.-Criterios de clasificación.....	15
2.6.-DAS 28.....	16
2.7.-Síndrome metabólico.....	17, 18
2.8.-Factores de riesgo cardiovasculares.....	19
2.9.-Medición íntima- media carotídeo.....	19, 20
2.10.-Prueba clínica de función endotelial.....	20
2.11.-Función endotelial.....	21
2.12.-Disfunción endotelial.....	21
2.13.-Biomarcadores.....	22
2.14.-Citocinas.....	22
2.15.-Reactantes de fase aguda.....	22, 23
2.16.-Interleucina 6.....	24
2.17.-Factor de necrosis tumoral α	24

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.18.-Factor de Von Willebrand.....	25
2.19.-Inhibidor del activador tisular del plasminógeno tipo 1.....	25, 26
2.20.- Ligando CD40.....	27
2.21.-Técnica de ELISA.....	27, 28
3.-Justificación.....	29
4.-Hipotesis.....	30
5.-Objetivos.....	31
6.-Materiales y Métodos.....	32
Sitio del Estudio.....	32
Pacientes.....	32
Muestra.....	32
Grupo Control.....	32
Diseño experimental.....	32
Criterios de inclusión.....	33
Criterios de exclusión.....	33
Criterios de Eliminación.....	33
Procedimientos.....	34- 42
Análisis estadístico.....	43
7.-Resultados.....	44- 57
8.-Discusión.....	58- 63
9.-Resumen de resultados.....	64
10.-Conclusiones.....	65
11.-Perspectivas.....	66
12.-Bibliografía.....	67- 72

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 articulación sinovial.....	12
Figura 2 Técnica de ELISA de TNF α	35
Figura 3 Técnica de ELISA de IL-6.....	36
Figura 4 Técnica de ELISA de PCR.....	37
Figura 5 Técnica de ELISA de CD40-L.....	38
Figura 6 Técnica de ELISA de PAI-1.....	39
Figura 7 Técnica de ELISA de FvW.....	40
Figura 8 Antecedentes Heredofamiliares en AR.....	45
Figura 9 Antecedentes personales patológicos en AR.....	46
Figura 10 Biomarcadores en casos y controles.....	50
Figura 11 Correlación TNF α y DAS28.....	51
Figura 12 Correlación CD40-L y DAS28.....	52
Figura 13 Correlación PCR y DAS28.....	53
Figura 14 Valores de DAS 28 y HAQ (anteriores y actuales).....	57

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Criterios de clasificación de AR.....	15
Tabla 2 Criterios diagnósticos de síndrome metabólico.....	18
Tabla 3 Factores de riesgo tradicionales.....	47
Tabla 4 Características clínicas y demográficas.....	48
Tabla 5 Biomarcadores en casos y controles.....	49
Tabla 6 Correlación biomarcadores y DAS 28.....	50
Tabla 7 Correlación biomarcadores y grosor íntima- media carotídeo.....	54
Tabla 8 Factores de riesgo cardiovascular anteriores y actuales (datos clínicos)	55
Tabla 9 Factores de riesgo cardiovasculares anteriores y actuales (laboratorio)	56

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Abreviaturas

AC: Anticuerpo

Actividad clínica: En este trabajo se refiere a la calificación obtenida en un índice denominado DAS28 (Disease Activity Score de 28 articulaciones)

ADP: Adenosin difosfato

Ag: Antígeno

ATPIII: Panel de tratamiento para el adulto III

AR: Artritis Reumatoide

BH: Biometría Hemática

DAS28: Calificación que mide en 28 articulaciones el número de articulaciones inflamadas, número de articulaciones dolorosas, velocidad de sedimentación globular (VSG)

CD40-L: Ligando CD40

DM: Diabetes Mellitus

EDTA: Acido Etilen Diamino Tetracético

EGO: Examen general de orina

ELISA: Enzyme Linked Inmunoabsorbent assay

EVA: Escala Visual analoga

FvW: Factor de von Willebrand

GIMC: Grosor íntima- media carotídea

HAQ: Health Assessment Questionnaire

HDL: Lipoproteína de alta densidad

HOMA IR: Homeostasis model assesment (Determina Resistencia a insulina)

IDARE: Inventario ansiedad rasgo- estado

IDF: Federación internacional de diabetes

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

IFP: Interfalangico proximal

IL-1: Interleucina 1

IL-6: Interleucina 6

IMC: Índice de masa corporal

KDa: Kilodaltons

LDL: Lipoproteina de baja densidad

MCF: Metacarpofalángica

MTF: Metatarsofalángica

MTX: Metotrexato

OMS: Organización mundial de la salud

ON: Óxido Nítrico

PAI-1: Inhibidor del activador tisular del plasminogeno tipo 1

PCR: Proteína C reactiva

QS: Química sanguínea

TA: Tensión arterial

TNF α : Factor de necrosis tumoral alpha

t PA: Activador tisular del plasminógeno

u PA: Activador del plasminógeno tipo urokinasa

VSG: Velocidad de sedimentación globular

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

RESUMEN

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE (AR) Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SINDROME METABOLICO.

Entre las principales causas de morbimortalidad en AR se encuentra la enfermedad cardiovascular. Se postula una relación entre inflamación y disfunción endotelial.

El objetivo del presente estudio fue medir por ultrasonido el grosor de la íntima-media carotídea en pacientes con AR y evaluar su correlación con actividad inflamatoria, biomarcadores de disfunción endotelial y síndrome metabólico en comparación con un grupo control.

PACIENTES Y METODOS: Incluimos 37 pacientes con AR y 37 controles pareados por edad (\pm 3 años) y género. Se analizaron 50 variables clínicas y 33 de laboratorio, entre ellas las demográficas, las antropométricas, los factores de riesgo cardiovascular, las relacionadas con la enfermedad, las metabólicas (lípidos, glucosa, insulina, HOMA), las funcionales (HAQ), las de actividad clínica (DAS-28), las emocionales (IDARE), el grosor íntima- media carotídea (GIMC) por ultrasonido y la prueba clínica de disfunción endotelial por medio de vasodilatación mediada por flujo. Análisis estadístico: Comparación entre casos y controles de las diferentes variables con estadística no paramétrica (chi cuadrada, exacta de Fisher, U de Mann-Whitney, correlación de Spearman). La significancia estadística se estableció con un nivel de alfa de 0.05.

RESULTADOS: A pesar de no encontrar diferencia entre pacientes y controles en factores de riesgo para enfermedad cardiovascular tales como hipertriglicéridemia, hipercolesterolemia, hiperglucemia, sedentarismo e hipertensión arterial. Los Biomarcadores en pg/ml: Casos: x/ DE versus Controles x/ DE; valor de p: IL-6 10/13.1 vs 4.6/2.4; p=0.01; TNF α 12.8/9 vs 9.8/8.7; p=0.158; PAI-1 42.2/16.8 vs 29.1/11.6; p<0.0001; CD40-L 452.6/616.2 vs 180.1/126.9; p=0.012; Biomarcador en μ g/ml Casos x/DE versus Controles x/DE ; valor de p: PCR .8767/.1436 vs .5215/.3315 p<0.0001; biomarcador en porcentaje Casos x/DE versus Controles x/DE; valor de p: FvW 452.6/616.2 vs 180.1/126.9; p=0.002 .La prevalencia de síndrome metabólico fue de en 14 pacientes (37.8%) y de en 15 controles (40.5%). Se hizo una correlación entre GIMC y biomarcadores mostrando una correlación positiva entre GIMC y TNF α rho=.409 y p<0.0001.

CONCLUSIONES: Encontramos que a 7 años en promedio de evolución de la enfermedad los pacientes presenta diferencia al compararlos con sujetos aparentemente sanos, en mediciones de biomarcadores tanto de daño endotelial como inflamatorios. Esto no es del todo explicado por factores de riesgo para enfermedad cardiovascular. Sin embargo no fue así en los estudios radiológicos tal como la prueba clínica de función endotelial y la medición del complejo íntima media carotídea.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ABSTRACT

BIOMARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS. ASSOCIATION WITH DISEASE ACTIVITY, TREATMENT AND METABOLIC SYNDROME.

Cardiovascular disease is found as one of the main causes of morbidity and mortality in Rheumatoid Arthritis (RA). Patients with RA and metabolic syndrome have higher levels of disease activity. An association between inflammation and endothelial dysfunction has been proposed.

The aim of the present study was to assess the prevalence of endothelial dysfunction and its relation with metabolic syndrome, disease activity and treatment in Mexican patients with RA.

PATIENTS AND METHODS: 37 patients with RA and 37 sex and age (+/- 3 years) matched controls were included in the study. 50 clinical and 33 laboratory variables were analysed, among them: demographic, anthropometric, traditional and nontraditional cardiovascular risk factors, disease-related, metabolic (lipid profile, glucose, insulin, HOMA), functional (HAQ), disease activity (DAS-28), emotional (IDARE), endothelial dysfunction assessed by endothelial dependent flow-mediated dilation (ED-FMD) and intima media thickness (IMT) and specific biomarkers. Statistical analysis: We used independent t test to compare cases and controls for different variables. Two-sided p values of ≤ 0.05 were considered statistical significant.

RESULTS: *We don't find difference between patients and controls in cardiovascular risk factors, like triglycerides increased, glucose and LDL increased, hypertension and sedentary. We find increased in patients with RA but don't in controls levels of biomarkers as IL-6, PCR, PAI-1, FvW, CD40-L.*

However we don't find difference on carotid ultrasound measurement on intima media thickness or in the assessment of endothelial function.

This is a cohort reviewed 2 years ago, we find currently that the patients have more activity disease measured for DAS 28, however don't have difference in the disability determined by HAQ.

CONCLUSIONS: We find that 7 years of disease evolution the patients have differences compared with the controls in levels of biomarkers. This don't be explained for cardiovascular risk factors. Therefore the measurement of intima media thickness and assessment of endothelial function don't have differences.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

1.-INTRODUCCION.

La artritis reumatoide es una enfermedad crónica, autoinmune, inflamatoria, sistémica, de distribución mundial, con una prevalencia en México de 1% . Su incidencia global es de 48 casos por 100 000 habitantes por año. Entre las principales causas de morbilidad y mortalidad se encuentran la enfermedad cardiovascular, las infecciones y las enfermedades gastrointestinales. (1)

La mortalidad se incrementa con los siguientes factores de riesgo: tener edad avanzada, ser del género masculino, tener mayor deterioro funcional, presentar el factor reumatoide positivo, un mayor número de articulaciones inflamadas y un bajo nivel socioeconómico (1).Se sugiere que el aumento de la morbilidad por enfermedad cardiovascular en pacientes con AR es debido al aumento de la actividad inflamatoria a nivel sistémico y ello pudiese asociarse con daño endotelial. (2)

El endotelio vascular más que una capa que recubre los vasos sanguíneos es una estructura con múltiples y variadas funciones. Entre ellas resaltan la regulación del tono vascular a través de síntesis y liberación del óxido nítrico; desempeña también un importante papel en la fisiología de la inmunidad ya que permite el paso de neutrófilos y macrófagos y actúa además como regulador manteniendo el equilibrio entre coagulación y fibrinólisis, sintetizando tanto factores protrombóticos como anticoagulantes. (3)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.-MARCO TEORICO.

2.1.- ANTECEDENTES.

La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune, crónica, inflamatoria, sistémica y de etiología múltiple. Presenta una distribución mundial, con una mayor frecuencia en mujeres (6:1); puede iniciar a cualquier edad, pero con mayor frecuencia es entre la 4^o y 6^o década de la vida. El mal pronóstico en los pacientes con AR se asocia con datos de actividad inflamatoria persistente, presencia de nódulos reumatoides, factor reumatoide positivo a títulos altos, menor edad de inicio de la enfermedad, género masculino, bajo nivel cultural e historia de tabaquismo.

Existen varios factores genéticos predisponentes. Uno de los más conocidos es el epítipo compartido que se ha encontrado presente en diversas poblaciones que incluyen estudios en mexicanos. Otros genes se han asociado con esta enfermedad. Al parecer ciertos factores ambientales interactúan con dichos genes y aumentan el riesgo de padecer la enfermedad. Uno de ellos, probablemente el mejor estudiado es el tabaquismo que aumenta el riesgo con un gradiente que ha sido consistente en diversas poblaciones. Se ha postulado que la infección periodontal pudiese ser especialmente importante como disparador de la enfermedad. Otros factores ambientales como la exposición a insecticidas parecen incrementar el riesgo de desarrollar AR.

2.2.- ARTICULACIONES SINOVIALES:

Las articulaciones diartroideas, es decir las que tienen membrana sinovial se consideran especialmente importantes en AR. La membrana sinovial es el órgano de choque de este padecimiento sistémico. Revisamos la anatomía y fisiología de estas articulaciones para entender mejor la fisiopatogenia.

Las articulaciones sinoviales están conformadas de dos extremos óseos cubiertos por cartílago hialino, una capsula articular y ligamentos. Tienen también liquido en su interior "liquido sinovial" segregado por la membrana sinovial.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

a).-La capsula articular consta de una capa externa de tejido conectivo denso y una capa interna “membrana sinovial” que presenta pliegues que salen hacia el espacio articular.

La membrana sinovial consta de una capa de tejido conjuntivo laxo o subíntima y una capa de células de revestimiento o sinoviocitos.

Hay dos tipos de sinoviocitos, los tipo A y los tipo B; los primeros son células fagocíticas que proceden de la medula ósea de la línea monocito- macrófago, mientras que los segundos son indistinguibles de los fibroblastos y proceden de células del mesénquima local.

Entre las funciones que se destacan de los sinoviocitos están; limpiar el líquido sinovial, segregar proteínas, sintetizar componentes de la matriz extracelular, como células presentadoras de antígenos, regulan el recambio del líquido sinovial, regulan el metabolismo del cartílago articular y el flujo sanguíneo sinovial.

b).- Cartílago articular: Es el tejido que cubre las partes óseas de la articulación y constituye su superficie de carga.

No tiene vasos sanguíneos ni linfáticos y su nutrición la obtiene a través del líquido sinovial; está constituido por fibras de colágeno tipo II y proteoglicanos.

El cartílago articular es muy activo metabólicamente, siendo capaz de cambiar su contenido en 8 días y esto aumenta cuando existe una lesión.

c).- Vascularización articular: Vienen de los vasos que entran al hueso subcondral y forman un círculo arterial. Este círculo proyecta 2 o 3 plexos a las zonas más profundas de la membrana sinovial. Hay dos tipos de capilares, los superficiales y los profundos.

d).- Inervación articular: hay fibras miélicas, amielínicas simpáticas y amielínicas nociceptivas.

Las miélicas son encargadas de la propiocepción a través de los órganos terminales de Ruffini; las amielínicas simpáticas controlan el tono de los vasos sinoviales y finalmente las amielínicas nociceptivas en forma de terminales libres se encargan de reconocer los estímulos dolorosos.

e).- Meniscos y ligamentos: los meniscos están constituidos por cartílago fibroso, tienen como función dar estabilidad a las articulaciones y solo se encuentran en algunas articulaciones como por ejemplo rodilla. Los ligamentos están formados por tejido

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

conectivo denso y su función es mantener los extremos óseos de la articulación en contacto.

f).- Líquido sinovial: Es un líquido claro ligeramente amarilloso, es un dializado del plasma con productos de los sinoviocitos tipo B. Varía en cantidad en cada articulación, gracias a su contenido de ácido hialurónico no es reabsorbido por los vasos linfáticos. (4)

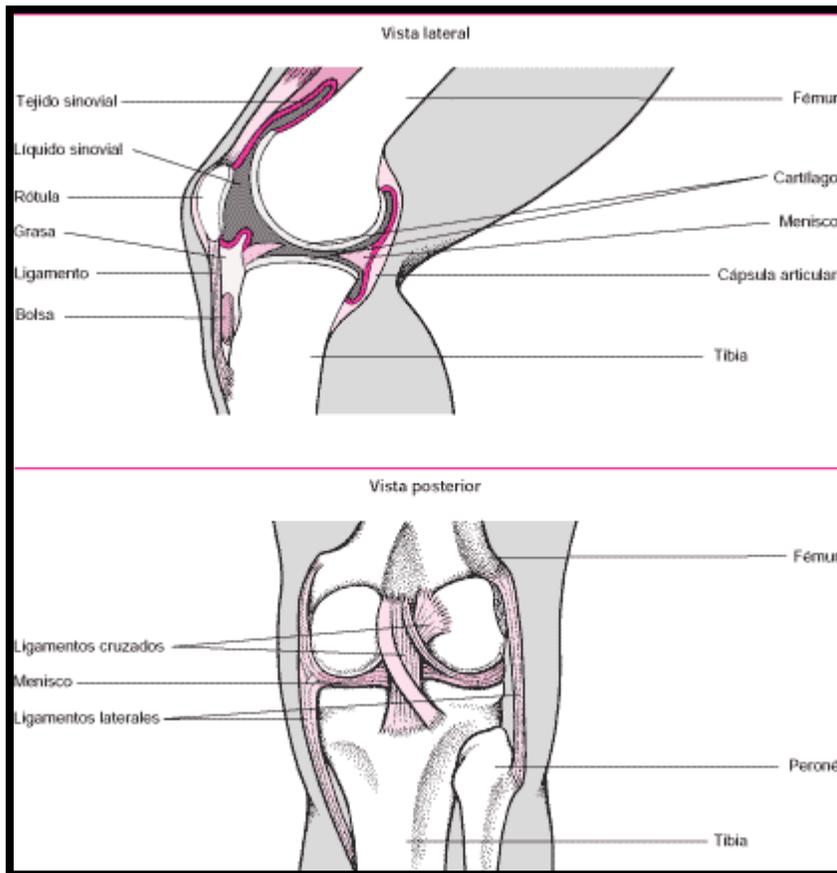


Figura1 anatomía de la articulación sinovial.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.3.- FISIOPATOLOGIA DE ARTRITIS REUMATOIDE:

La afección en la articulación reumatoide tiene 3 componentes principalmente: procesos autoinmunes, inflamación articular crónica y destrucción de cartílago, hueso y articulaciones. Las dos primeras etapas son asintomáticas mientras que la última presenta los datos clínicos característicos de la AR. (5)

El daño se inicia en endotelio microvascular con edema e infiltrado de polimorfonucleares. Después la sinovial se hipertrofia y se produce edema que sale a la cavidad articular y en el estroma subsinovial aparecen acúmulos nodulares de células mononucleares y plasmáticas. (4)

Entre los nódulos hay acúmulos difusos formados por macrófagos, linfocitos T, linfocitos B y células plasmáticas. Este proceso inflamatorio sinovial está acompañado de proliferación celular masiva “pannus” formado por macrófagos y fibroblastos activados que erosionan cartílago, hueso, tendones y ligamentos. (4)

La lesión en la articulación reumatoide se inicia con aumento de células en el revestimiento sinovial y posterior inflamación perivascular. Antes de iniciar los síntomas el infiltrado perivascular son predominantemente células mieloides, mientras que en la artritis sintomática son los linfocitos T. (6)

Las células endoteliales sinoviales reumatoides expresan una cantidad mayor de diversas moléculas de adherencia. La célula infiltrante predominante es el linfocito T CD4+. (6)

La alteración inicial parece ser una respuesta inflamatoria inespecífica que se inicia por un estímulo desconocido y que se caracteriza por acumulación de macrófagos y de otras células mononucleares en el tejido conjuntivo que queda inmediatamente por debajo del revestimiento sinovial, posteriormente se induce una activación de CD4+ por respuesta a los péptidos antigénicos presentados por diversas células con capacidad de presentación de antígeno en el tejido sinovial. (1)

La presencia de células como los sinoviocitos, y otras células activadas en la articulación lleva a las alteraciones de la artritis reumatoide, tales como la neovascularización, la hiperplasia sinovial, la destrucción del cartílago y erosiones óseas. Existen tres tipos celulares fundamentalmente que participan en el daño articular: neutrófilos, sinoviocitos tipo fibroblastos y macrófagos.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Los neutrófilos activados producen prostaglandinas, leucotrienos, degranulación, los cuales contribuyen directamente a la inflamación y destrucción del cartílago. La degranulación de los neutrófilos degrada el ácido hialurónico por lo que el cartílago queda expuesto.

Los sinoviocitos tipo fibroblastos producen enzimas como metaloproteasas (colagenasa y estromelisin) y catepsina.

Los macrófagos aumentan la expresión de citocinas proinflamatorias, y también producen enzimas proteolíticas (colagenasa, estromelisin, gelatinasa y elastasa). (4)

El CD40 se encuentra expresado en fibroblastos musculares tanto de sujetos sanos como en pacientes con AR, así como en células sinoviales de pacientes con AR y puede ser regulado por citocinas proinflamatorias. Se sugiere que la señal de CD40-L en mastocitos y sinoviocitos tipo fibroblastos estimulan secreción de citocinas proinflamatorias lo que contribuye a la destrucción articular. Por lo que la sobreexpresión de CD40-L en células T se correlaciona con aumento en la actividad de la enfermedad y con poca remisión en pacientes con AR.

2.4.-MANIFESTACIONES CLINICAS:

La AR es una poliartritis crónica, clínicamente dos terceras partes de los pacientes inician con síntomas generales tales como fatiga, anorexia, debilidad, hasta que se hace evidente la sintomatología de la sinovitis. Los síntomas de la AR se dividen en manifestaciones articulares y extraarticulares, las principales articulaciones afectadas son las manos, muñecas, rodillas y pies y es por lo general una afección simétrica.

Las manifestaciones articulares son dolor en las articulaciones afectadas, el cual aumenta con el movimiento, rigidez articular que aumenta con el reposo, puede haber aumento de volumen y calor en las articulaciones afectadas.

Las manifestaciones extraarticulares son principalmente la presencia de nódulos reumatoides, vasculitis reumatoide, manifestaciones pleuropulmonares, neurológicas, oculares, Síndrome de Felty, osteoporosis y Síndrome de Sjögren. (4,6)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.5.-CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN:

Existen diversos criterios para clasificar a un paciente como AR. Aunque en este año se publican nuevos criterios, los más utilizados y aceptados a la fecha son los 7 criterios del American College of Reumathology (ACR) de 1987.

1.- Rigidez matutina	Con una hora de duración como mínimo
2.- Artritis de 3 o más grupos articulares	Observada por un médico como aumento de partes blandas o derrames, articulaciones IFP, MCF, muñeca, codo, rodilla, tobillo, MTF.
3.- Artritis de articulaciones de las manos	IFP, MCF, muñeca, una al menos
4.-Artritis simétrica	Artritis simultanea de dos articulaciones simétricas, la afección de IFP, MCF o MTF puede ser bilateral y no simétrica
5.- Nódulos reumatoides	Observados por un médico en prominencias óseas, superficies extensoras o paraarticulares
7.- Factor reumatoide sérico	Determinado por un método que sea positivo en menos del 5% de los sujetos sanos controles
7.- Cambios radiográficos	Cambios típicos de AR en radiografía posteroanterior de mano y muñeca que deben incluir erosiones y descalcificación epifisaria evidente

Tabla 1 Criterios de clasificación de AR

Los criterios 1 a 4 deben de estar presentes por lo menos durante 6 semanas y el diagnostico de AR requiere de 4 de los 7 criterios. (6)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.6.-DAS 28.

Es importante la valoración de los pacientes con AR y poder determinar en cada consulta el grado de actividad de la enfermedad reumática, para lo cual es útil la utilización de índices compuestos que incluyen diversas variables para medir la actividad de la artritis reumatoide. El DAS 28 (Disease Activity Score) es el más utilizado tanto en la práctica clínica como en investigación y ha mostrado ser reproducible, valido, sensible al cambio y especialmente práctico.

Se trata de un índice compuesto que incorpora VSG, número de articulaciones dolorosas (0-28), número de articulaciones inflamadas (0-28) y evaluación de gravedad de la AR medida por el paciente en una escala visual análoga (EVA 1-100).

Las articulaciones consideradas en el DAS 28 tanto para determinar articulaciones inflamadas como articulaciones dolorosas son ambos hombros (2), ambos codos (2), ambas muñecas (2), metacarpofalángicas de ambas manos (10), las interfalángico proximales de ambas manos (10), así como ambas rodillas (2).

La escala visual análoga consiste en preguntar al paciente como se encuentra su estado general en ese momento, se le explica que cero es como si no presentara síntomas de la artritis reumatoide, tales como dolor o inflamación articular y 100 la mayor sintomatología posible.

La fórmula para sacar la puntuación es $DAS28 = 0.56 (\sqrt{\text{número de articulaciones dolorosas}}) + 0.28 (\sqrt{\text{número de articulaciones inflamadas}}) + 0.70 (\ln VSG) + 0.014(\text{Estado general del paciente})$

Un resultado menor o igual a 2.6 indica remisión de la enfermedad, entre 2.6 a 3.2 enfermedad con baja actividad, entre 3.2 a 5.1 enfermedad con moderada actividad y mayor de 5.1 es una enfermedad muy activa. (8)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.7.-SINDROME METABOLICO.

El término Síndrome Metabólico se refiere a un concepto clínico que se caracteriza por la presencia de componentes clínicos tales como obesidad abdominal, hipertensión arterial, dislipidemia aterogénica, estado proinflamatorio, estado protrombótico y resistencia a la insulina.

La teoría metabólica sostiene que la hiperinsulinemia compensatoria resultante de la resistencia a la insulina es el factor responsable de la hipertensión arterial, la diabetes tipo 2, la dislipidemia, la obesidad, la disfunción endotelial y la aterosclerosis a través de diversos mecanismos. La resistencia a la insulina depende de alteraciones de su receptor y defectos intracelulares.

Los pacientes con síndrome metabólico tienen mayor riesgo de desarrollar enfermedad arterial coronaria y mayores eventos vasculares adversos. (9)

Para su diagnóstico se han desarrollado una serie de criterios, los primeros publicados en 1999 por la OMS, posteriormente en el 2001 los criterios del Panel de Tratamiento para el Adulto III (ATPIII) y finalmente en el 2006 se publican los criterios de la Federación internacional de la diabetes (IDF).

En el 2006 S A Karvounaris y Col estudiaron a pacientes con AR y síndrome metabólico, referían que pacientes con AR tenían mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y que esto era debido a una aterosclerosis acelerada como resultado tanto de inflamación sistémica como de factores de riesgo tradicionales. Dichos autores postularon que la resistencia a la insulina, uno de los componentes clave en el síndrome metabólico es muy común en pacientes con AR, además de que la inflamación crónica estaba implicada en su fisiopatología. (10)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Criterios diagnósticos de Síndrome Metabólico

Criterio	OMS(1999)	NCEP ATPIII (2001)	IDF (2006)
Esencial \geq	DM, aumento de glucosa en ayuno, intolerancia a la glucosa o resistencia a la insulina y al menos 2 de los siguientes.	Tres o más de los siguientes factores de riesgo.	Obesidad central más 2 de los siguientes factores.
Obesidad central	1).-Índice cintura-cadera >0.90 en hombres >0.85 en mujeres o IMC >30 kg/m ²	1).-Circunferencia de cintura >102 cm en hombres y >88 cm en mujer	1).-Circunferencia de cintura \geq a 94cm en hombre y \geq a 80cm en mujer valores específicos aplicables para otros grupos de población)
Resistencia a la insulina	2).-Diabetes mellitus, aumento de glucosa en ayuno, deficiencia de tolerancia a la glucosa o resistencia a la insulina.	2).-Glucosa plasmática en ayuno ≥ 100 mg/dl (5.6mM)	2).-Glucosa plasmática en ayuno ≥ 100 mg/dl (5.6mM) o diagnostico previo de DM tipo II
Perfil de lípidos	3).-Triglicéridos séricos ≥ 1.7 mM y/o HDL-C <0.9 mM (35mg/dl) en hombres y <1.0 mM (39mg/dl) en mujeres.	3).-Triglicéridos ≥ 150 mg/dl (1.7mM). 4).-HDL-C <40 mg/dl (1.03mM) en hombre y <50 mg/dl (1.29mM) en mujer.	3).-Triglicéridos ≥ 150 mg/dl (1.7mM) o tratamiento específico para este perfil de lípidos anormal. 4).-HDL-C <40 mg/dl (1.03mM) en hombres y <50 mg/dl (1.29mM) en mujeres o tratamiento específico para este perfil de lípidos anormal.
Hipertensión	4).-Presión sanguínea $\geq 140/90$ mmHg	5).-Presión sistólica ≥ 130 o presión diastólica ≥ 85 mmHg.	5).-Presión sistólica ≥ 130 o diastólica ≥ 85 mmHg o tratamiento para diagnostico previo de hipertensión.
Otros	5).-Tasa de excreción de albumina urinaria >20 ug/min o índice albumina creatinina ≥ 30 mg/g		6).-Criterios metabólicos adicionales de apoyo, pero no esenciales para el diagnostico.

Tabla 2 criterios diagnósticos para síndrome metabólico (OMS, NCP o ATPIII, IDF)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.8.-FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR .

La epidemiología de las enfermedades cardiovasculares se inició en los años 30, esto a consecuencia del aumento de mortalidad por enfermedad cardiovascular, pero fue hasta los años 50 que se inició el estudio epidemiológico Framingham Heart Study. Los investigadores identificaron al aumento de colesterol y a la hipertensión como factores importantes para desarrollar enfermedad cardiovascular.

Diversos estudios han buscado distintos factores que se asocian a un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. En esta búsqueda se han encontrado una serie de factores tradicionales y no tradicionales entre los que se destacan como tradicionales a la diabetes mellitus, la hipertensión arterial, la edad avanzada, el género masculino, la hiperlipidemia aterogénica, el hábito tabáquico, el sedentarismo, la obesidad, la historia familiar de enfermedad cardiovascular prematura.

Entre los factores no tradicionales se han encontrado los niveles elevados de fibrinógeno, homocisteína, proteína C reactiva. En los últimos años se han incorporado a estos factores de riesgo no tradicionales los niveles elevados de diversos biomarcadores de disfunción endotelial tales como el PAI-1, el CD40-L, y el Factor de von Willebrand y biomarcadores de inflamación tales como la Proteína C reactiva, las Interleucinas 1 y 6 (IL1, IL6) y el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF α). (11)

2.9.-MEDICION DE INTIMA MEDIA CAROTIDEA..

La ecografía carotídea de alta resolución permite valorar la aterosclerosis preclínica mediante la determinación del grosor del complejo íntima-media y determinar también la presencia de placas. Estudios previos han mostrado la asociación entre grosor íntima-media en carótidas y factores de riesgo cardiovascular. La determinación del espesor íntima-media carotídea es un método sencillo y práctico para evaluar la sobrecarga lipídica de la pared arterial. El ultrasonido doppler es el método de imagen más usado en estudios de carótidas pues proporciona una evaluación no invasiva que permite detectar placas de ateroma, sus características y el grado de estenosis. Se ha demostrado su utilidad como método de tamizaje de riesgo cardiovascular en pacientes asintomáticos.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Sergio Chain y Col refieren que los valores de referencia varían de acuerdo a género y edad, existiendo estudios que reportan que más del 50% de hombres y mujeres después de los 55 y 65 años de edad respectivamente, presentan placas de ateroma. (12)

2.10.-PRUEBA CLINICA DE FUNCION ENDOTELIAL.

Al hablar de disfunción endotelial se refiere a un estado previo a la aparición de manifestaciones clínicas de la enfermedad cardiovascular, pero que ya muestra cambios en el endotelio que finalmente desencadenaran aterosclerosis y por lo tanto enfermedad cardiovascular.

La prueba clínica de función endotelial se trata de una prueba para medir la función vasomotora del endotelio por medio de estimulación tanto farmacológica como mecánica.

La primera mediante la infusión dependiente de endotelio tal como la acetilcolina sin embargo debido a su naturaleza invasiva es muy poco usada.

La que se utilizó en este estudio fue la vasodilatación dependiente de flujo de la arteria humeral.

Es una prueba accesible para toda la población, no es una prueba costosa, y no es invasiva en nuestro medio se ha desarrollado el método y propuesto con fines de investigación, sin embargo no ha sido validada por otros grupos. Después de 5 minutos en decúbito supino, se midió la tensión arterial en la muñeca derecha, en dos ocasiones, posteriormente se ocluyó la arteria humeral al ejercer presión con el brazalete del esfigmomanómetro a 60mmHg mayor a la tensión arterial sistólica la oclusión se mantuvo durante 5 minutos y luego se prosiguió a desinflar el brazalete para establecer el flujo arterial, por segunda vez se midió la tensión arterial diastólica a los 2, 5 y 7 minutos después de liberar la oclusión arterial. Como prueba de referencia, se realizó de manera simultánea la medición ultrasonográfica del diámetro de la arteria humeral. (13)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.11.-FUNCION ENDOTELIAL.

El endotelio era considerado anteriormente como una unicapa inerte que solo regulaba la difusión entre la sangre y tejidos, sin embargo actualmente se considera como un órgano endócrino y parácrino activo que cumple funciones de regulación del tono vascular, de la fisiología de la inmunidad y finalmente regulando la fisiología y fisiopatología de la coagulación y de la fibrinólisis. La relación de plaquetas, endotelio y factores de coagulación tiende a mantener la fluidez de la sangre a través del equilibrio homeostático;(14,15) sin embargo al perder su integridad o al afectarse por inflamación, su actividad protectora se pierde y puede iniciar síntesis de moléculas que perpetúan el daño.

2.12.-DISFUNCION ENDOTELIAL.

El endotelio es el primer sitio de daño en la enfermedad cardiovascular. La disfunción endotelial se presenta antes de que aparezca la lesión aterosclerótica clínicamente evidente, por lo que se toma en cuenta como un marcador de enfermedad cardiovascular subclínica.

La disfunción endotelial se manifiesta por un aumento en la permeabilidad a lipoproteínas plasmáticas, aumento en la adherencia de los leucocitos mediada por la expresión incrementada de glicoproteínas en la superficie endotelial; desequilibrio en las funciones hemostáticas y en la producción de sustancias vasoactivas.

Se han descrito diferentes formas de estudiar la función del endotelio que dependen de la capacidad de producción del óxido nítrico y de su efecto vasodilatador. (15,16, 45)

Hay estudios como el de Vaudo y Col que refieren la presencia de disfunción endotelial en pacientes con artritis reumatoide, asociando la disfunción con la actividad inflamatoria. (43,44)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.13.-BIOMARCADORES

El término biomarcadores se refiere a variables biológicas que dan información adicional sobre enfermedades. Estas pueden ser de carácter clínico, radiológico o biológico. Sin embargo este término por lo general se aplica a sustancias circulantes que se miden con pruebas especiales.

Entre las características que deben cumplir se describen las siguientes: deben detectar diferentes estadios de una enfermedad, ser capaces de identificar a los individuos sensibles de una población, tener adecuada sensibilidad y especificidad, ser sencillas en cuanto a muestreo, ser estables y complementar el resultado de las pruebas estándar. (18)

2.14.- CITOCINAS:

Las citocinas son un grupo de moléculas de naturaleza polipeptídica que se producen en varios tipos de células y regulan una amplia variedad de funciones.

A las citocinas se les conoce también con el nombre de interleucinas, linfoquinas, monoquinas, interferones, factores de crecimiento, factores estimulantes de colonias, quimioquinas.

Todas ellas aunque cumplen diversas funciones comparten características entre sí, como ser de naturaleza glicoproteica, con un bajo peso molecular, se secretan de manera transitoria, actúan ya sea sobre la misma célula que la liberó (autócrinas) o en células vecinas (parácrinas) o pasar a la sangre y actuar en otros tejidos distantes (endócrina).

Son mediadores potentes que tienen importante efecto a bajas concentraciones a través de receptores celulares de alta afinidad, siendo así su mecanismo de regulación. (4)

2.15.- REACTANTES DE FASE AGUDA:

Debido a la inflamación hay cambios en las concentraciones de varias proteínas (proteínas de fase aguda) y muchos otros cambios que forman los fenómenos de fase

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

aguda. Entre estos fenómenos podemos encontrar a la fiebre, somnolencia, anorexia, anemia, leucocitosis, trombocitosis, pérdida de masa muscular, osteoporosis, caquexia, etc. A demás del aumento de las proteínas de fase aguda, llamadas así a aquellas que durante la inflamación varían en su concentración en más del 25%.

Según su variación plasmática se dividen en 3 grupos, uno las proteínas que aumentan hasta en un 50% como por ejemplo ceruloplasmina y subcomponente del complemento C3; segundo las proteínas que se aumentan 2 a 3 veces como por ejemplo haptoglobina, fibrinógeno, α 1- glucoproteína acida, α 1- antitripsina, α 1- antiquimiotripsina y tercero las que aumentan de 100 hasta 1000 veces como por ejemplo la proteína C reactiva (PCR) y la proteína amilode sérica A (SAA).

Hay proteínas también de fase aguda negativas, esto quiere decir que disminuyen cuando hay inflamación, como por ejemplo la albumina, la transferrina, la α 2- HS glucoproteína y el factor XII. (4)

La Proteína C reactiva PCR fue descubierta en 1930 en el suero de pacientes con neumonía neumococica, debe su nombre a la cualidad de precipitar con el polisacarido C del neumococo en presencia de calcio. Se encuentra en cantidades pequeñas en sujetos normales, y aumenta rápidamente su síntesis por estímulos inflamatorios. A las 6 horas de una agresión ya ocurre un aumento en los niveles plasmáticos con un pico máximo a las 24 a 72horas. Es una beta globulina que pertenece a la familia de las proteínas llamadas pentaxinas. Es una medida directa de respuesta de fase aguda, no varía con la edad, morfología de los hematíes ni por las variaciones de otras proteínas. Puede aumentar hasta 1000 veces, la mayoría de sujetos sanos tienen concentraciones plasmáticas menores a 2mg/L y en hasta un 40% de ellos es menor de .5mg/L. (4)

Este reactante de fase aguda es ampliamente usado para la valoración clínica, como guía de actividad de la enfermedad en pacientes con Artritis Reumatoide. (22)

La velocidad de sedimentación globular (VSG) es una prueba sencilla, inespecífica que mide en mm la sedimentación eritrocitaria en una hora. Los reactantes de fase aguda aceleran la precipitación de los eritrocitos y por lo tanto la sedimentación aumenta en presencia de inflamación o infección. De manera interesante también aumenta en mujeres y en ancianos.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.16.- INTERLEUCINA 6.

Es un polipéptido de 184 aminoácidos que regula el crecimiento y la diferenciación de varios tipos celulares, principalmente del sistema inmune, del hematopoyético y de la inflamación.

Es una citocina producida por una gran variedad de células incluidas linfocitos T y B, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, mesangiales. Esta citocina contribuye a la activación y proliferación de linfocitos T y B con lo que podría participar en la producción de autoanticuerpos. Sus acciones a distancia actúan de manera similar a la IL-1 y al TNF α y en sinergismo con ellas en la inducción de fiebre, síntesis de proteínas de fase aguda por los hepatocitos. Además induce la activación de osteoclastos, con lo que puede participar en la resorción ósea característica de los procesos inflamatorios. (4,5)

La IL-6 es una citocina que aumenta su expresión en pacientes con AR y que afecta la función de neutrófilos, células T, células B, monocitos y osteoclastos, células que se encuentran muy activas en AR. Es además el mayor inductor de respuesta de fase aguda hepática, la cual es característica clave de la AR y que se correlaciona con destrucción articular y por lo tanto con actividad de la enfermedad. (19)

2.17.-FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALPHA.

Es un polipéptido de 157 aminoácidos principalmente producido por macrófagos activados, comparte muchas de las acciones proinflamatorias con la IL-1, contribuyendo junto con esta interleucina en la degradación de la matriz extracelular a través de la estimulación de metaloproteasas por sinoviocitos y condrocitos, así como por la activación de osteoclastos y la inhibición en la síntesis de colágeno tipo II, induce proliferación en sinoviocitos, recluta leucocitos dentro de los tejidos inflamados, también ayuda a la neovascularización. (4,5)

Actúa como verdadera hormona pasando a la circulación y produciendo manifestaciones sistémicas tales como fiebre, astenia, leucocitosis y síntesis de proteínas de fase aguda.

Aunque no se sabe la causa exacta de la AR, se ha confirmado en su fisiopatología el papel de ciertas citocinas proinflamatorias tales como IL-1, IL-6 y el TNF α . (20)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.18.- FACTOR DE VON WILLEBRAND)

Es una glicoproteína de alto peso molecular, que se sintetiza y almacena en megacariocitos y células endoteliales. Es un polipéptido de 270 kD que en vasos sanguíneos intactos no interactúa con los receptores de las plaquetas, pero cuando un vaso se daña y se expone el subendotelio este se une al FvW, interacción que induce un cambio conformacional en el factor el cual expone los sitios de unión para la glicoproteína 1b plaquetaria favoreciendo la adhesión al endotelio. Los multímeros del FvW se almacenan en su mayor parte en los cuerpos de Weibel Palade endoteliales de donde pueden liberarse por diversos estímulos tales como la presencia de trombina, calcio, fibrina, concentraciones elevadas del activador tisular del plasminógeno t PA, plasmina, adrenalina, bradicinina, IL-1, vasopresina y su análogo sintético la desamino-D-arginina-vasopresina (DDAVP).

El FvW actúa también como acarreador esencial del FVIII permitiendo la estabilidad de este factor en la circulación. (17)

Se sabe del papel del FvW como marcador de disfunción endotelial y se ha estudiado como marcador de enfermedad cardiovascular en pacientes con Artritis Reumatoide. (21)

2.19.-INHIBIDOR DEL ACTIVADOR DEL PLASMINOGENO TISULAR TIPO 1.)

La activación del sistema de coagulación lleva a la generación de trombina, agregación de plaquetas y termina en la formación de una red de fibrina (formación del coágulo). Al mismo tiempo hay mecanismos reguladores antitrombóticos. Entre estos mecanismos están, primero la inhibición de la agregación de plaquetas y la vasodilatación, en segundo lugar la inhibición de la formación de fibrina y en tercero la disolución del coágulo por el sistema fibrinolítico.

La secuencia de eventos que conducen a la disolución del coágulo es el resultado de un equilibrio entre grupos de proteínas que actúan como generadores de plasmina (plasminógeno, activadores, fibrina), o como inhibidores (alfa 2 antiplasmina, PAI-1). (17)

El PAI-1 es una glicoproteína de 50 000 daltones que consta de 379 aminoácidos, pertenece a la familia de los inhibidores de proteasas serínicas. Es el principal inhibidor

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

fisiológico de los activadores tipo tPA y uPA y desempeña un importante papel en la regulación de la fibrinólisis. Es sintetizado por las células endoteliales y los hepatocitos, se encuentra presente en los gránulos alfa de las plaquetas (90%) y en el plasma (10%) donde circula en forma activa ligado a una proteína estabilizadora (vitronectina), siendo su vida media de 10 minutos.

Los niveles plasmáticos en sujetos sanos están entre 0.5-40 U/ml, mientras que los de PAI-1 antigénico (plaquetario) están alrededor de 20ng/ml.

El compartimento sanguíneo más importante de PAI-1 lo constituyen las plaquetas donde se almacena en los gránulos alfa y se libera por acción del colágeno y ADP. El hígado y el endotelio vascular también van a contribuir a la presencia en la sangre de este inhibidor. Numerosas sustancias regulan su síntesis a nivel endotelial, tales como endotoxina, IL1, TNF α , trombina y diversos factores de crecimiento aumentan dicha síntesis, mientras que la insulina sérica es el principal regulador de la síntesis de PAI- 1 a nivel del hepatocito.

Durante la agregación plaquetaria se produce un marcado aumento de los niveles del inhibidor. Puede encontrarse bajo 3 formas moleculares, latente, activa y formando complejos con los activadores. El PAI-1 plaquetar está en forma latente, el plasmático se encuentra fundamentalmente en su forma activa.

Reacciona con el tPA mono y bicatenario y uroquinasa, pero no con uPA. La interacción del PAI-1 con los activadores tiene lugar a través de la formación de un complejo a nivel del centro reactivo con liberación de un péptido intermedio. (25)

El PAI-1 se ha encontrado aumentado en pacientes con enfermedad cardiovascular, lo que relaciona su elevación con predisposición de padecer eventos vasculares.

Hay estudios que han asociado biomarcadores tales como moléculas de adhesión, PAI-1, t PA, FvW con disfunción endotelial, aterosclerosis y enfermedad cardiovascular en población general. Otros estudios han mostrado niveles mayores de t PA, PAI-1, FvW en pacientes con AR en comparación con sujetos controles. (26)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

2.20.-LIGANDO CD40.

El CD40 es una proteína integral de membrana de 40 a 45 kDa con 4 dominios extracelulares ricos en cisteína de 45 aminoácidos cada uno, se encuentra en todas las células presentadoras de antígeno, células T, endotelio vascular, queratinocitos y fibroblastos. El CD40-L (CD154 gp39) es una proteína integral de membrana de 32 a 39 kDa que se expresa predominantemente en linfocitos T CD4 activados pero también se ha descrito en células T CD8, eosinófilos, mastocitos, basófilos, NK y células dendríticas.

El CD40-L forma un trímero y el CD40 se une a dicho trímero en la interfase entre dos monómeros. Las interacciones CD40/CD40-L son clave en la regulación de numerosos procesos de activación del sistema inmune, la expresión de estas moléculas en diversos tejidos lo confirma. En la inmunidad humoral la unión CD40 con CD40-L es importante en la respuesta inmune primaria y secundaria a los antígenos T dependientes, en la creación de células B de memoria y en la generación y mantenimiento de los centros germinales. Las interacciones de este par ligando-receptor están involucradas en la actividad de otras células presentadoras de antígeno como las células dendríticas donde modulan la producción de ciertas citocinas y en monocitos. (23)

2.21.-TECNICA DE ELISA.

La técnica de ELISA (EnzymeLinkedImmunoabsorbentAssay) se basa en la detección de antígenos inmovilizados sobre una fase sólida, mediante anticuerpos que producen una reacción cuyo producto se mide por espectrofotometría.

La técnica de ELISA emplea tanto antígenos como anticuerpos ligados a una enzima de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática.

Al encontrarse uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e inmovilizado sobre un soporte, la reacción Ag-Ac quedara inmovilizada y por tanto será fácilmente revelada mediante la adición de un substrato específico que al actuar la enzima

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro.

Los lectores de ELISA son espectrofotómetros capaces de realizar lecturas seriadas de cada uno de los pocillos de la placa de ELISA. Disponen de sistemas de filtros que solo permiten la lectura de una o pocas longitudes de onda. El ensayo de ELISA consta de cuatro fases; primero la conjugación del anticuerpo con una enzima, segundo la unión del antígeno específico al anticuerpo inmovilizado en los pocillos, tercero la formación de una o más capas de inmunocomplejos y finalmente el revelado de la reacción enzimática.

Los diferentes tipos de ELISA permiten desde la cuantificación de un antígeno en solución, detección de un anticuerpo en una solución, o la determinación de la subclase de un anticuerpo. (27)

- I. ELISA directo (ensayo ELISA simple de 2 capas).
- II. ELISA indirecto
- III. ELISA tipo “sándwich”.

Las fases del ELISA tipo Sandwich, consiste en la fijación a una fase solida de un anticuerpo específico del agente a detectar, posteriormente un lavado para eliminar los anticuerpos no fijados, seguido de la adición de la muestra problema (en este caso suero o plasma), seguido de un segundo lavado para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado, después se agrega un segundo anticuerpo específico del antígeno a detectar (debe tener epítipo diferente de los anticuerpos con los que han tapizado el soporte) conjugados con una enzima, que reaccionan con antígenos añadidos con la muestra problema y que se encuentran fijos a los anticuerpos. Se realiza otro lavado para eliminar anticuerpos marcados que no hayan reaccionado. Después se adiciona un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea y se hace lectura finalmente por colorimetría. (27)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

3.-JUSTIFICACION:

Se ha encontrado una mayor incidencia de enfermedad cardiovascular en los pacientes con artritis reumatoide, esto sugerido por el proceso inflamatorio sistémico; provocando un daño endotelial que evoluciona a disfunción.

Por lo que la artritis reumatoide se propone como un modelo inflamatorio para el estudio del daño endotelial. El estudiar una cohorte de pacientes a dos años de su evaluación inicial, nos permitirá determinar la evolución del daño endotelial a la par de la actividad de la enfermedad reumática y poder determinar si evolucionan simultáneamente.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

4.- HIPOTESIS:

Existe una correlación positiva entre la actividad clínica de la artritis reumatoide medida por DAS 28 y el grado de disfunción endotelial en pacientes con artritis reumatoide, lo cual aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

5-OBJETIVOS

5.1.- OBJETIVO GENERAL:

Medir por ultrasonido el grosor de la íntima-media carotídea en pacientes con AR y evaluar su correlación con actividad inflamatoria, biomarcadores de disfunción endotelial y síndrome metabólico en comparación con un grupo control.

5.2.-OBJETIVOS PARTICULARES:

- Reevaluar la prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales y no tradicionales y su relación con actividad clínica.
- Determinar la asociación entre biomarcadores de disfunción endotelial en casos y controles con el diagnóstico de síndrome metabólico.
- Determinar la asociación entre biomarcadores y tratamiento antireumático, de especial interés esteroides y metotrexate.
- Conocer la correlación de tres diferentes métodos que miden disfunción o daño endotelial.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

6.-MATERIALES Y METODOS:

Sitio del Estudio:

Laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular de la División de estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr Ignacio Chávez” y El Hospital general “Dr Miguel Silva” de Morelia Michoacán.

Pacientes:

Pacientes que en año 2008 fueron evaluados y diagnosticados para artritis reumatoide por el servicio de reumatología del Hospital General “Dr Miguel Silva” y que participaron en el estudio de “Prevalencia de factores de riesgo tradicionales y no tradicionales de afección cardiovascular en pacientes ambulatorios con artritis reumatoide”.

Muestra.

Se incluyeron a los pacientes de la consulta de reumatología del hospital general “Dr Miguel Silva”, incluidos en la cohorte de pacientes integrada en 2008, se valoraron su actividad de la enfermedad clínicamente y se tomaron muestras de sangre por punción venosa en antebrazo, para determinar BH, VSG, QS, PL, insulina, además de realizar examen general de orina.

Se realizó la determinación de biomarcadores de daño endotelial en suero y plasma sanguíneo tales como (CD40, PAI-1, FvW, PCR) por la técnica de ELISA, así como marcadores inflamatorios (IL-6, FNT α).

Se congelaron las muestras a -70 grados centígrados hasta el momento de su estudio.

Grupo control.

Está formado por grupo de personas sin diagnóstico clínico de AR y que aceptaron participar en el estudio.

Tomando en cuenta sujetos del mismo género y pareados por edad con un rango de más menos 3 años.

Diseño experimental. Se trata de un estudio de cohorte longitudinal, con información tomada de manera prolectiva con dos grupos: Pacientes y controles.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Criterios de inclusión.

- a) Pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide que participaron en estudio anterior.
- b) Con consentimiento informado de acuerdo a la norma.
- c) Mayores de 16 años.
- d) Sexo Indistinto.
- e) Pacientes con expediente clínico completo en el hospital general "Dr Miguel Silva" Morelia Michoacán.

Criterios de exclusión.

- a) Pacientes con otras enfermedades autoinmunes agregadas.
- b) Pacientes con expediente clínico incompleto.
- c) Pacientes que no acepten participar en el estudio.

Criterios de eliminación.

- a).-Pacientes que hayan aceptado participar en el estudio de acuerdo a norma y que decidan separarse del estudio.
- b).-Pacientes cuyas muestras biológicas no hayan sido procesadas o almacenadas en la forma adecuada por lo que no se asegure la calidad para el estudio.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Procedimientos

VALORACION CLINICA DEL PACIENTE.

Se realizó la captura de pacientes en el consultorio de reumatología del hospital general “Dr Miguel Silva”, haciéndoles la invitación de participar nuevamente en el proyecto.

Al aceptar los pacientes se les llevo a el consultorio del área de investigación del Hospital, para realizarles una historia clínica con interrogatorio de antecedentes heredofamiliares, personales patológicos, uso de medicamentos, toxicomanías, así como valoración de su nivel de discapacidad por medio del cuestionario HAQ, actividad de la enfermedad por el algoritmo DAS28, presencia o no de ansiedad por medio del cuestionario IDARE.

Se realizó la medición de peso, talla, TA, cuenta de articulaciones tanto dolorosas como inflamadas, así como el cálculo de IMC e índice cintura- cadera.

DETERMINACION DE LABORATORIO.

Se corroboró que el paciente se encontrara en ayuno, para la toma de muestras de sangre por punción venosa en antebrazo, usando vacutainer y obteniendo muestra para 1 tubo con anticoagulante tipo citrato de sodio, 2 tubos sin uso de anticoagulante y 1 tubo con anticoagulante tipo EDTA.

Además de pedirle al paciente una muestra de orina con la que se realizó un Examen General de Orina (EGO).

Las determinaciones de EGO, BH, QS, perfil de lípidos, Insulina, VSG se realizaron con la colaboración del personal del laboratorio del hospital general “Dr Miguel Silva”.

Posteriormente un tubo sin anticoagulante y uno con anticoagulante tipo citrato de sodio se centrifugaron para obtener suero y plasma respectivamente.

Estos se separaron en alícuotas de 200µl, se etiquetaron y se congelo a -70 grados para posteriormente realizar las determinaciones de los biomarcadores tanto inflamatorios como de daño endotelial por medio de la técnica de ELISA tipo sándwich en el laboratorio de Hemostasia y Biología Vascular de la división de posgrado de la facultad de medicina.

El mismo procedimiento de historia clínica, exploración física y toma de muestras se hicieron en los sujetos control.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ENSAYO DE ELISA (SÁNDWICH) PARA LA DETERMINACIÓN DE TNF α

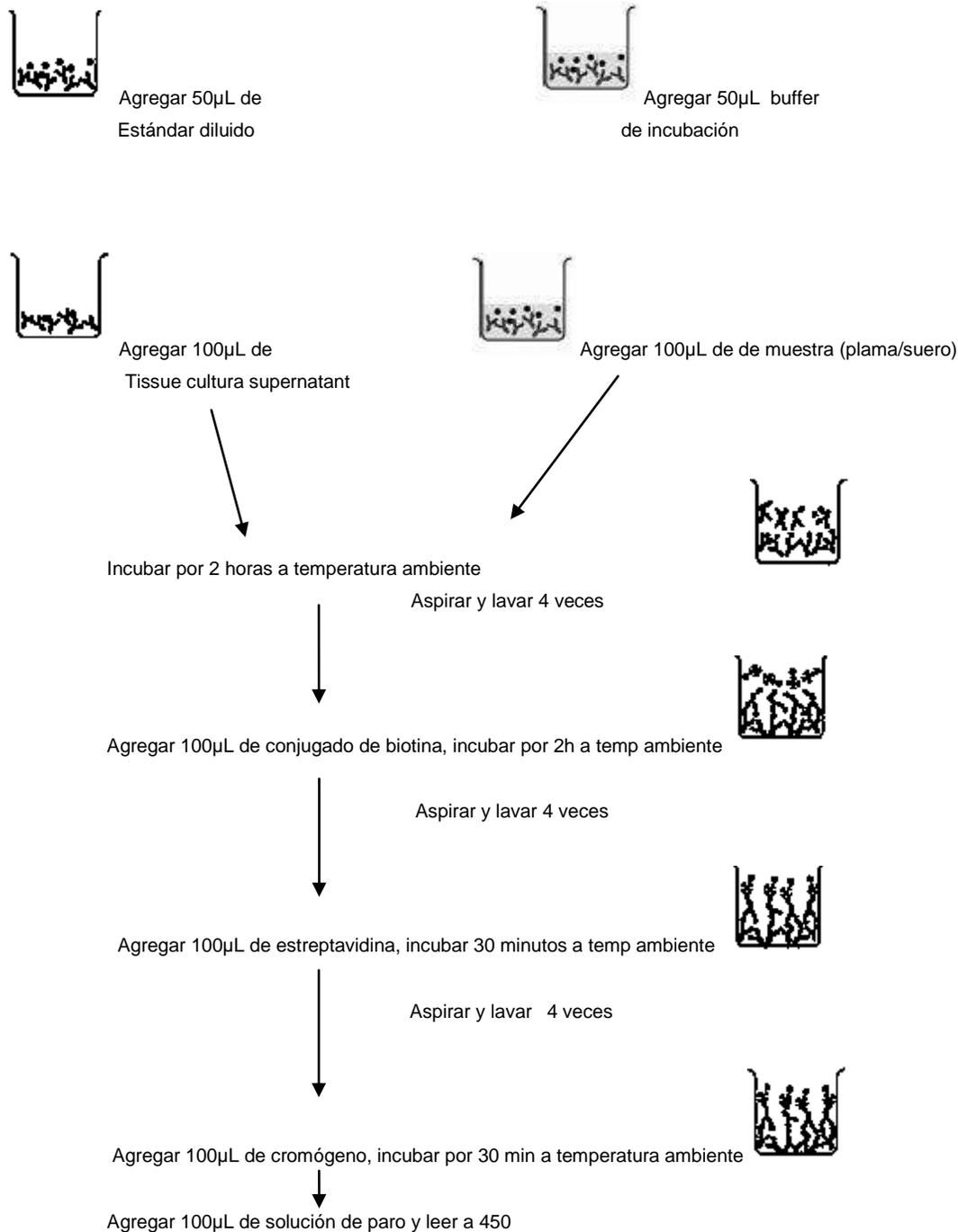


FIGURA 2 ENSAYO DE ELISA DE TNF α

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ENSAYO DE ELISA (SÁNDWICH) PARA LA DETERMINACIÓN DE IL-6

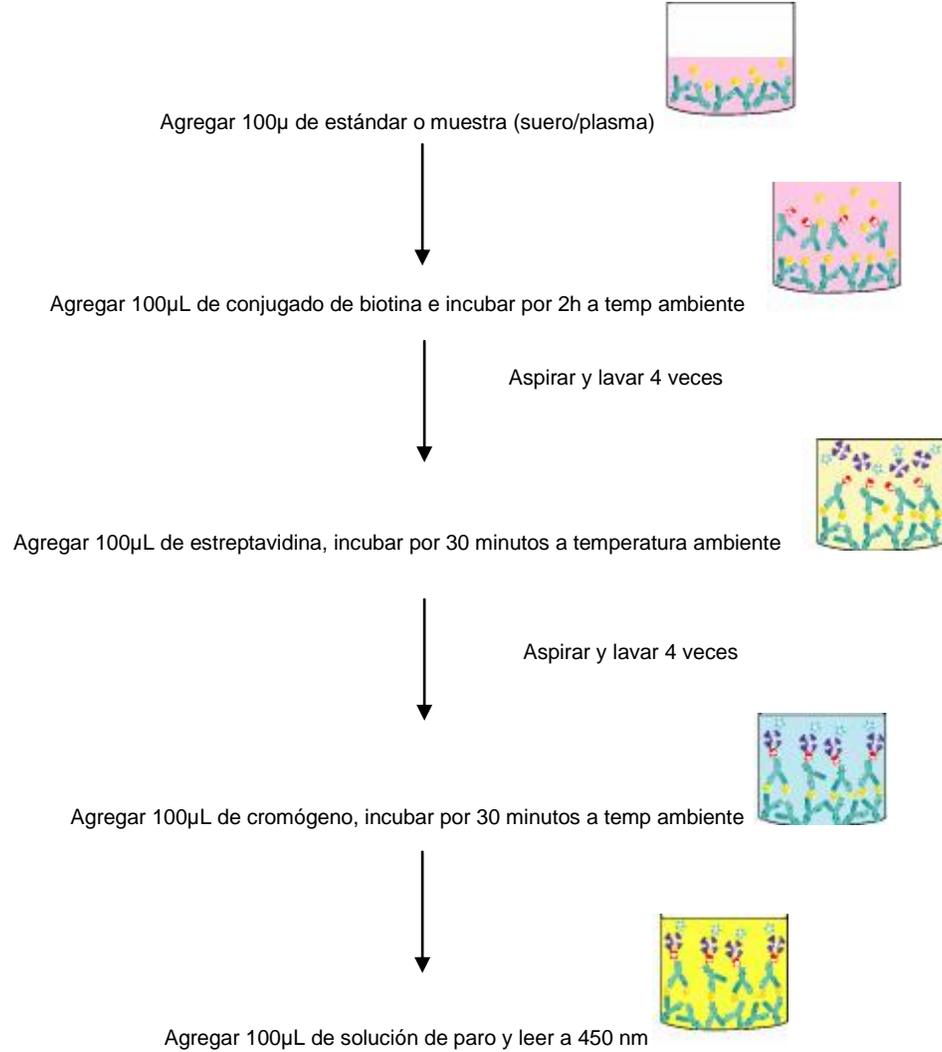


Figura 3 ensayo de ELISA de IL-6

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ENSAYO DE ELISA (SÁNDWICH) PARA LA DETERMINACIÓN DE PCR

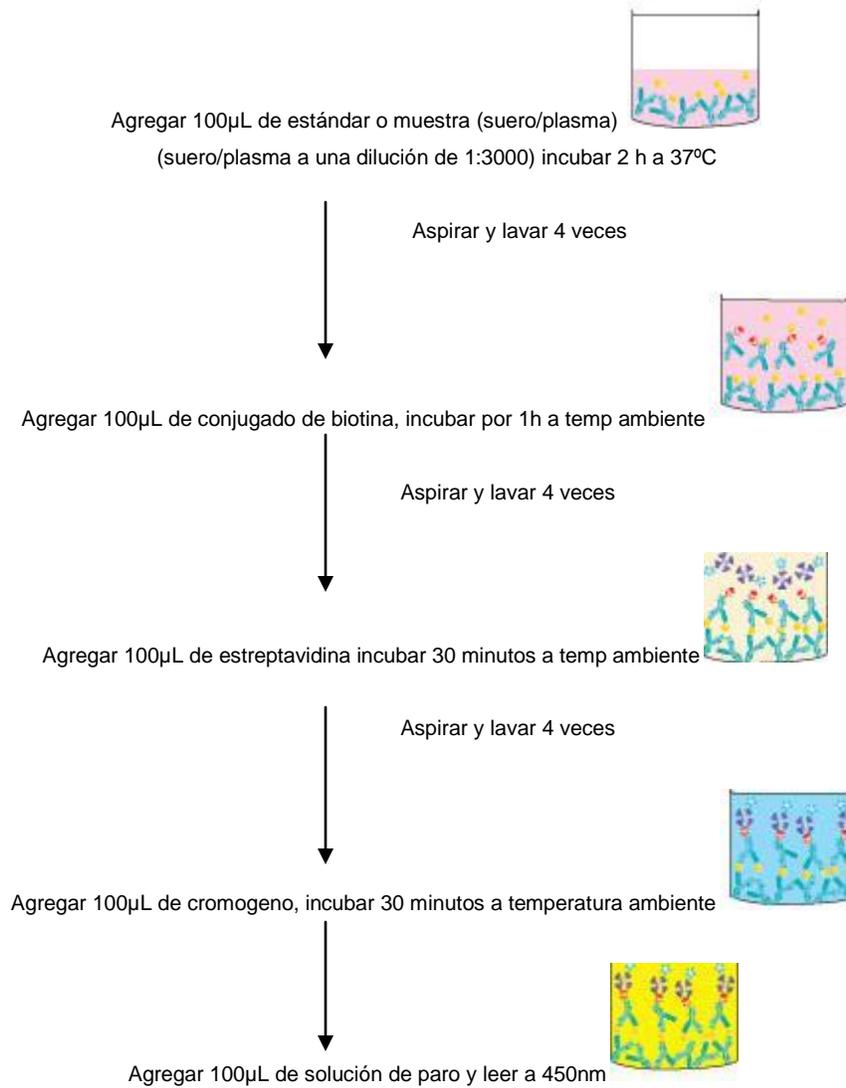


FIGURA 4 ensayo de ELISA de PCR

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ENSAYO DE ELISA (SÁNDWICH) PARA LA DETERMINACIÓN DE CD40-L

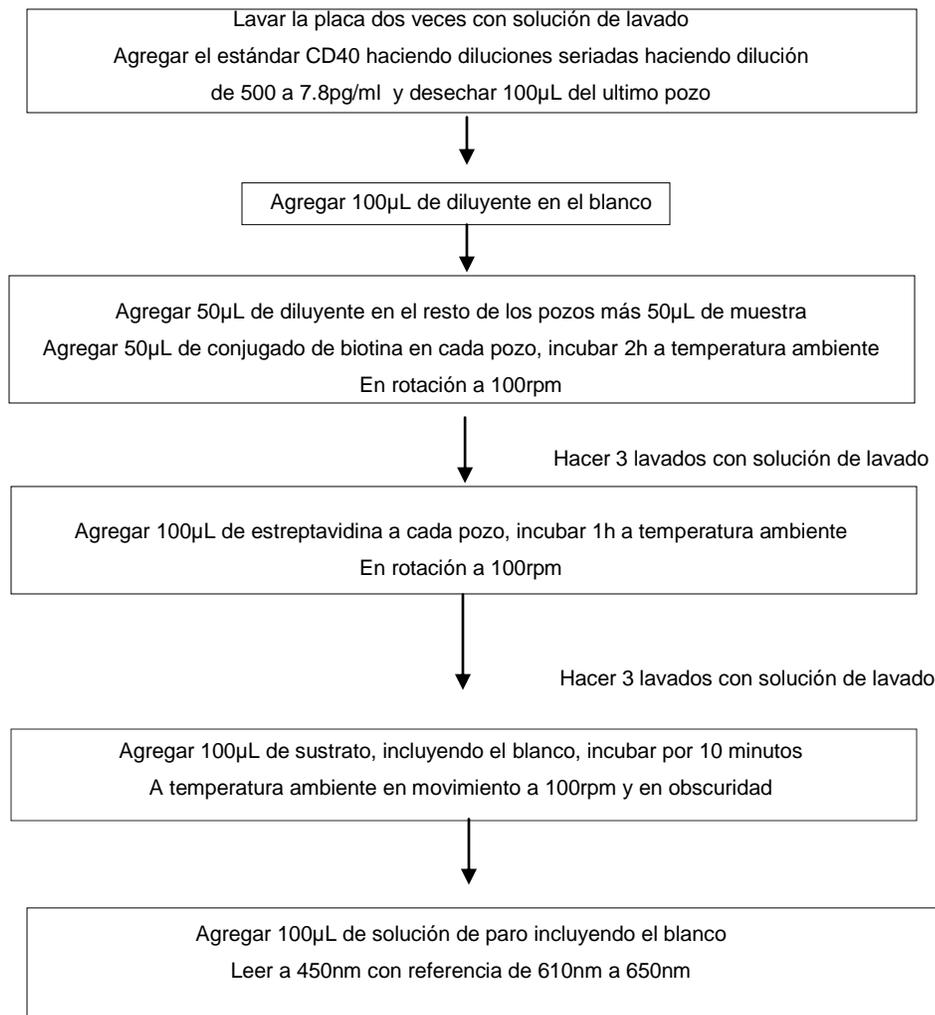


FIGURA 5 ensayo de ELISA de CD40-L

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ENSAYO DE ELISA (SÁNDWICH) PARA LA DETERMINACIÓN DE PAI-1

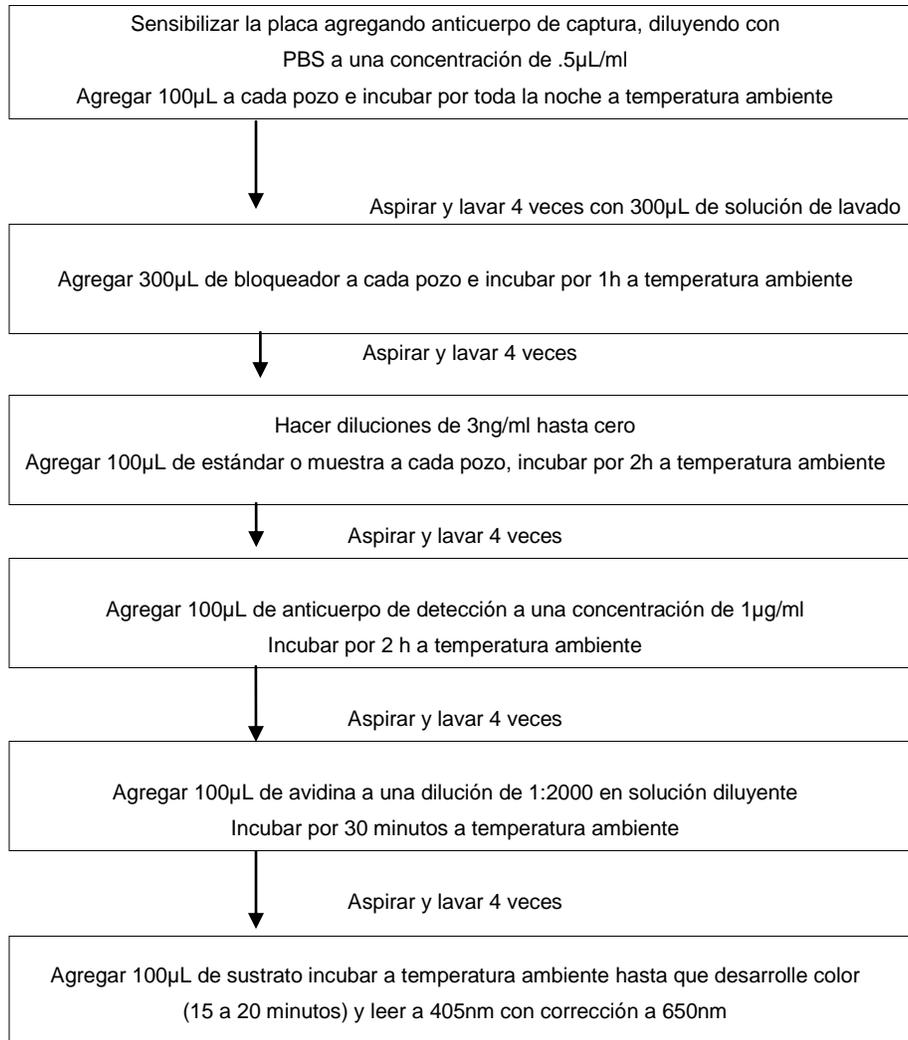


Figura 6 ensayo de ELISA de PAI-1

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ENSAYO DE ELISA (SÁNDWICH) PARA LA DETERMINACIÓN DE FvW

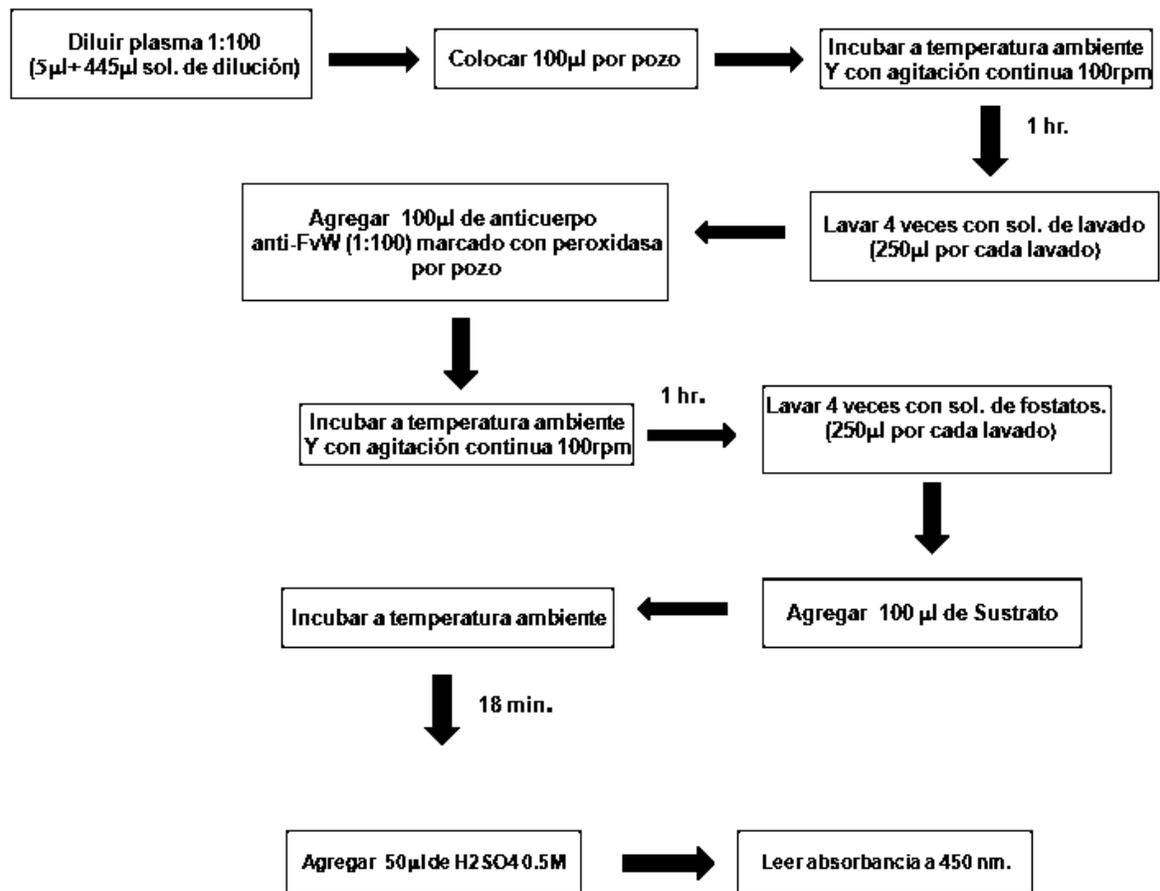


Figura 7 ensayo de ELISA de FvW

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

PRUEBA CLINICA DE FUNCION ENDOTELIAL.

Tanto para la prueba clínica de función endotelial como la determinación del grosor del complejo intima media carotídea se citó a los pacientes en el servicio de radiología del hospital general “Dr Miguel Silva”. Ambas pruebas fueron realizadas por médicos radiólogos y residentes de radiología.

Primero se deja en reposo por 5 minutos al paciente en decúbito supino, se mide la tensión arterial en dos ocasiones en la muñeca, con un baumanómetro digital marca omron, para sacar una presión diastólica promedio, posteriormente se ocluye la arteria humeral con un brazalete a 60 mmHg mayor a la tensión arterial sistólica que se encontró. La oclusión se deja por 5 minutos después se vuelve a medir la tensión arterial diastólica a los 2, 5 y 7 minutos.

Se obtiene un promedio de las presiones diastólicas encontradas y si es menor a las 2 primeras presiones diastólicas que se tomaron antes de la oclusión se dice que es una prueba con un buen funcionamiento endotelial, ya que la reacción normal de endotelio a la oclusión es la vasodilatación.

Si ocurre lo contrario y no hay cambio o hay vasoconstricción se habla de una prueba con disfunción endotelial.

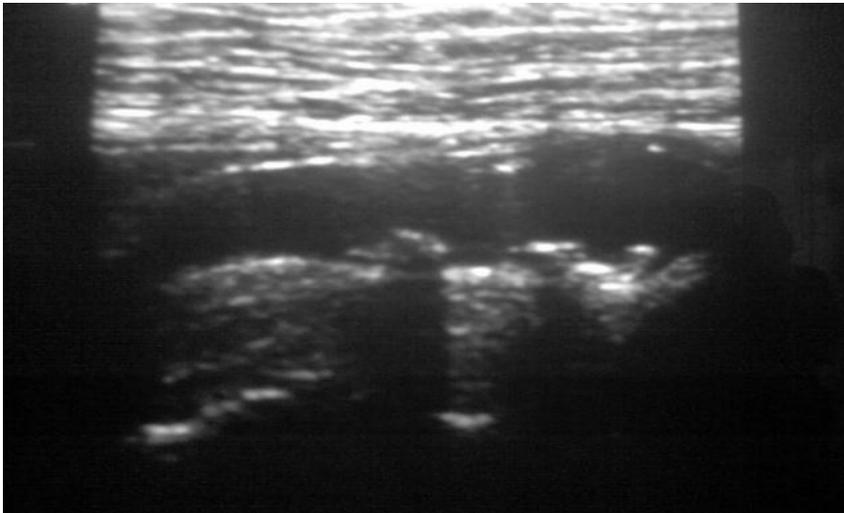
Otra forma de valorar la respuesta endotelial es por medio de ultrasonido midiendo el calibre de la arteria humeral antes y después de la oclusión. Si hay una vasodilatación mayor al 10% se considera una buena respuesta endotelial, de lo contrario si no hay cambio en el calibre de la arteria humeral o presenta vasoconstricción entonces se habla de una disfunción endotelial.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

MEDICION DE INTIMA MEDIA CAROTIDEA POR ULTRASONIDO DOPPLER.

Se procedió a medir el grosor del complejo íntima media carotídea, de la carótida derecha, la medición se hace en la pared posterior de la carótida común a un centímetro del bulbo. Todas las mediciones fueron hechas en el mismo equipo de ultrasonido de alta resolución con un transductor lineal y se tomaron en cuenta variables anatómicas de cada paciente tales como cuello muy corto o con demasiado panículo adiposo.

Una medición del complejo íntima media carotídea por arriba de 0.8 mm se tomó como un engrosamiento del mismo. También se determinó la presencia o no de placas de ateroma así como las características de las mismas.



BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ANALISIS ESTADISTICO

Se realizó estadística descriptiva con medidas de tendencia central (media) y medidas de dispersión (varianza, desviación estándar).

Para evaluar la fuerza de asociación entre diferentes variables dicotómicas en los grupos de comparación con tablas de contingencia la razón de momios con los intervalos de confianza del 95%.

Para variables continuas se utilizó la prueba de t de Student en todos los casos significativo un valor de p menor de 0.05 para el objetivo primario y menor de 0.01 para los objetivos secundarios como ajuste a comparaciones múltiples.

Se realizó correlación de Pearson, considerando significativo un valor de $p < 0.05$.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

7.-RESULTADOS:

En nuestro estudio incluimos a 37 pacientes con AR, que se habían evaluado en el estudio anterior de “Prevalencia de factores de riesgo tradicionales y no tradicionales de afección cardiovascular en pacientes ambulatorios con Artritis Reumatoide“, en el año 2008, así como 37 sujetos controles pareados por género y edad más menos 3 años.

Cada grupo incluyó 31 mujeres y 6 hombres, para el grupo de los pacientes con AR tenían una edad en promedio de 46.8 años, con una edad mínima de 24 años y máxima de 80 años y con una evolución de la enfermedad de 7.7 años en promedio.

La figura 8 y 9 muestran tanto los antecedentes heredofamiliares como los antecedentes personales patológicos respectivamente, en los pacientes con Artritis Reumatoide.

Los factores de riesgo cardiovasculares tradicionales de los pacientes y controles se describen en la tabla 2; mostrando una diferencia significativa en la TA diastólica entre los pacientes y controles con una $p=0.052$. También se encontró significancia estadística en el tabaquismo, encontrándolo mayor en los controles con una $p=0.06$.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES DE PACIENTES CON AR.

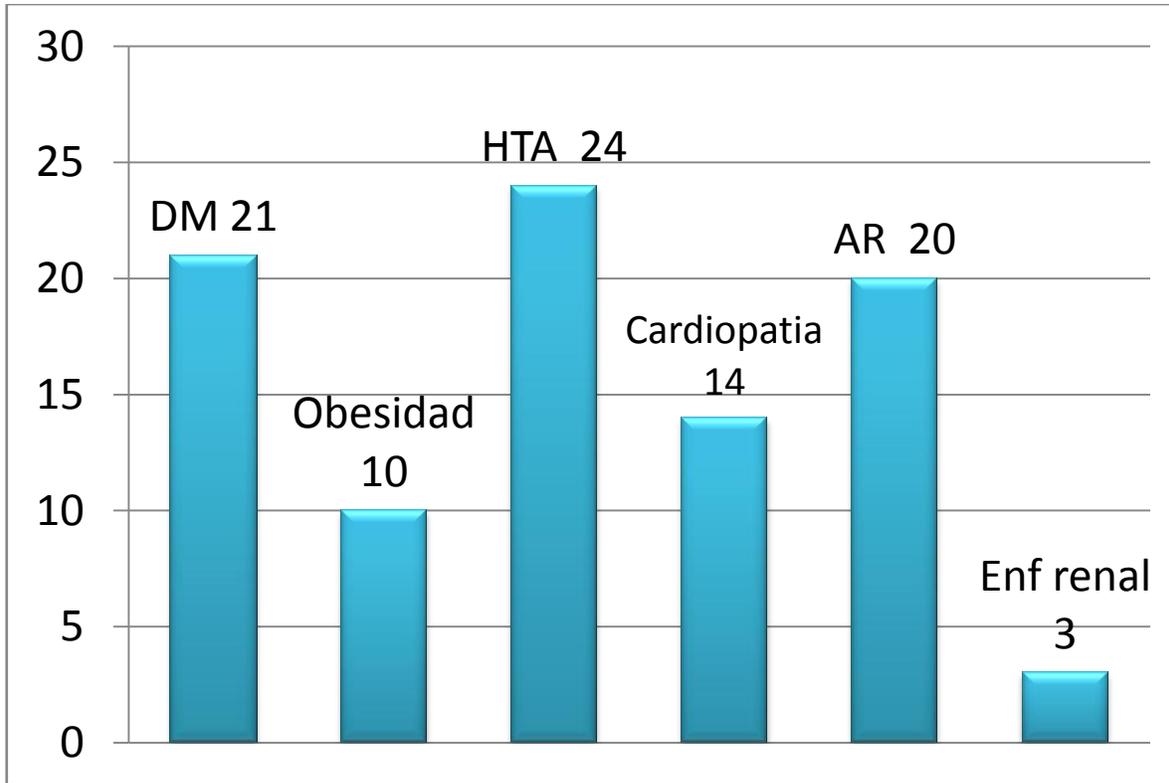
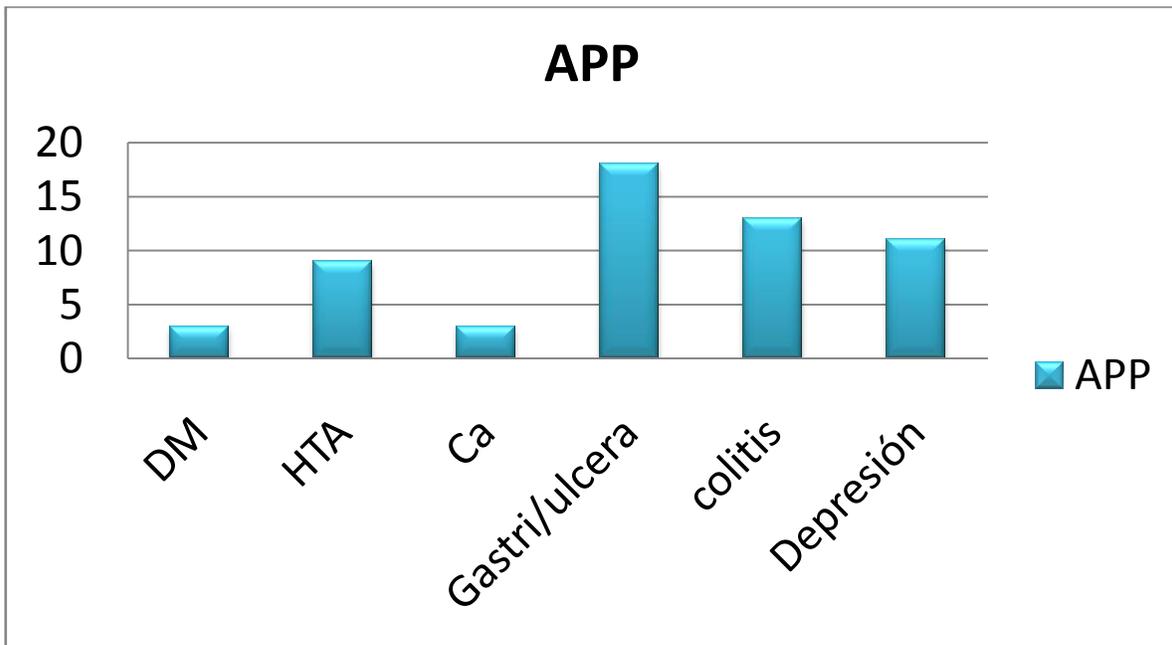


Figura 8. Antecedentes heredofamiliares de los pacientes con AR, encontrando el antecedente de HTA en 24 pacientes (64.8%), DM en 21 pacientes (56.7%), AR en 20 pacientes (54%), Cardiopatía en 14 pacientes (37.8%), Obesidad en 10 pacientes (27%) y Enfermedad renal en 3 pacientes (8.1%).

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.



La figura 9 muestra los antecedentes personales patológicos de los pacientes con Artritis Reumatoide, encontrando Gastritis y/o ulcera en 18 pacientes (48.6%), colitis en 13 pacientes (35.1%), depresión en 11 pacientes (29.7%), Cáncer en 3 pacientes (8.1%) y finalmente DM en 3 pacientes (8.1%).

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

TABLA 3 FACTORES DE RIESGO TRADICIONALES EN PACIENTES Y CONTROLES.

VARIABLES	AR	CONTROLES	Valor p
Genero F/M	31/6	31/6	
Edad (\bar{x} /DE)	46.8/14.9	46.9/14.9	0.994
Triglicéridos (\bar{x} /DE)	147.29/68.14	151/58.8	0.80
TA Sistólica (\bar{x} /DE)	131/22.9	128/20.9	0.557
>130mmhg	54%	37%	
TA Diastólica (\bar{x} /DE)	78/11.3	73/9.8	0.052
>85mmhg	29%	16%	
HDL HOMBRE (\bar{x} /DE)	47.83/9.84	41.17/8.08	0.23
HDL MUJER	44.16/12.31	47.03/11.62	0.35
LDL HOMBRE	117.36/23.80	102.06/21.58	0.27
LDL MUJER	101.94/32.28	100.53/29.80	0.85
TABAQUISMO	3/37 8.1%	10/37 27%	0.06
SEDENTARISMO	18/37 48.6%	22/37 59.4%	0.48

*prueba t, significancia $p < 0.05$, tabaquismo y sedentarismo con prueba de Fisher, significancia $p < 0.05$

TABLA 4 CARACTERISTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS ENTRE PACIENTES Y CONTROLES.

**BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN
PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON
ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME
METABÓLICO.**

VARIABLE	AR	CONTROLES	Valor p
Escolaridad (\bar{x}/DE)	8.4/4.3	13.24/6.2	<0.0001
IMC (\bar{x}/DE)	26/5.3	25/5.6	0.78
Cintura hombres (\bar{x}/DE)	92.83/14.24	91.67/15.04	0.89
Cintura mujer (\bar{x}/DE)	89.74/10.62	87.90/12.21	0.53
HOMA IR (\bar{x}/DE) >2.5	2.9/1.5 21(56.7%)	2.9/1.8 16(43.2%)	0.95
Síndrome Metabólico	14(37.8%)	15(40.5%)	
Glucosa (\bar{x}/DE) >100mg/dl	104.44/31.1 3(8.1%)	100.7/21.6 2(5.5%)	0.60
Ácido úrico (\bar{x}/DE) >7mg/dl	4.2/1.3 0%	4.34/1.5 4(10.8%)	0.68
Plaquetas (\bar{x}/DE) >400	295/83 3(8.1%)	242/66 0%	0.004
IDARE			
A. Estado	3(8.1%)	0	
A. Rasgo	1(2.7%)	0	
A. R/E	3(8.1%)	2(5.4%)	
VSG (\bar{x}/DE)	29.8/11	20.5/11.2	0.001

La tabla 4 muestra las características clínicas y demográficas de los pacientes y controles encontrando una diferencia significativa en la escolaridad en años cursados, siendo en promedio de 8.4 años en los pacientes y de 13.2 en los controles con una $p < 0.0001$.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

En las variables de laboratorio como son la VSG y la cuenta de plaquetas se encontró diferencia significativa entre pacientes y controles. Encontrando que la cuenta de plaquetas era mayor en los pacientes a diferencia de los controles ($p=0.004$). También se vio mayor la VSG en los pacientes ($p=0.001$).

TABLA 5 BIOMARCADORES EN CASOS Y CONTROLES

VARIABLE	AR n= 37	CONTROLES n= 37	Valor p
IL6 pg/ml (\bar{x} /DE)	10.03/13.10	4.61/2.39	0.019
TNF α pg/ml (\bar{x} /DE)	12.80/9.04	9.83/8.75	0.158
PAI-1 pg/ml (\bar{x} /DE)	42.28/16.85	29.15/11.65	<0.0001
CD40-L pg/ml (\bar{x} /DE)	452.68/616.25	180.17/126.96	0.012
PCR μ g/ml (\bar{x} /DE)	.8767/.1436	.5215/.3315	<0.0001
FvW % (\bar{x} /DE)	135.83/25.72	116.61/23.57	0.002

*Significancia $p<0.05$, Prueba t.

La tabla 5 muestra la medición de los biomarcadores IL-6, TNF α , PAI-1, CD40-L, PCR y FvW, tanto en los pacientes con AR como en los sujetos controles.

Encontrando una diferencia significativa para IL-6 ($p=0.019$), PAI-1 ($p<0.0001$), CD40-L ($p=0.015$), PCR ($p<0.0001$) y finalmente para FvW ($p=0.002$).

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

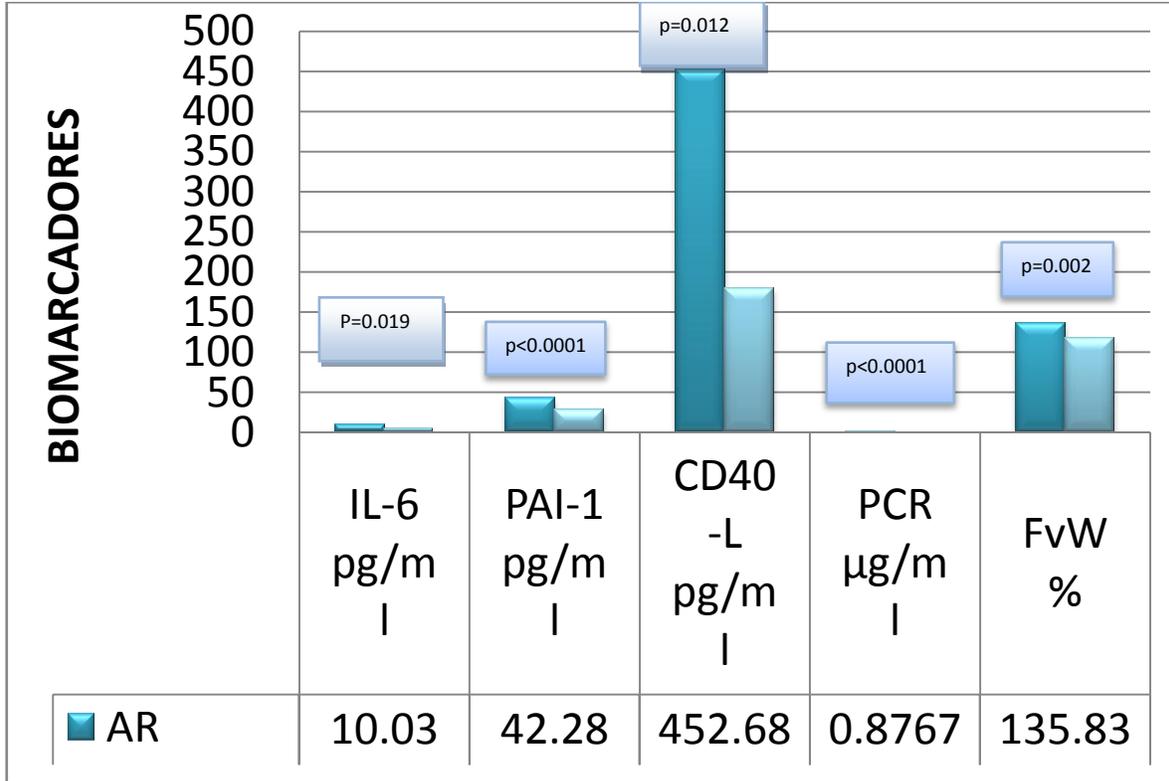


Figura 10 Biomarcadores en casos y controles

TABLA 6 CORRELACION DE BIOMARCADORES Y DAS28

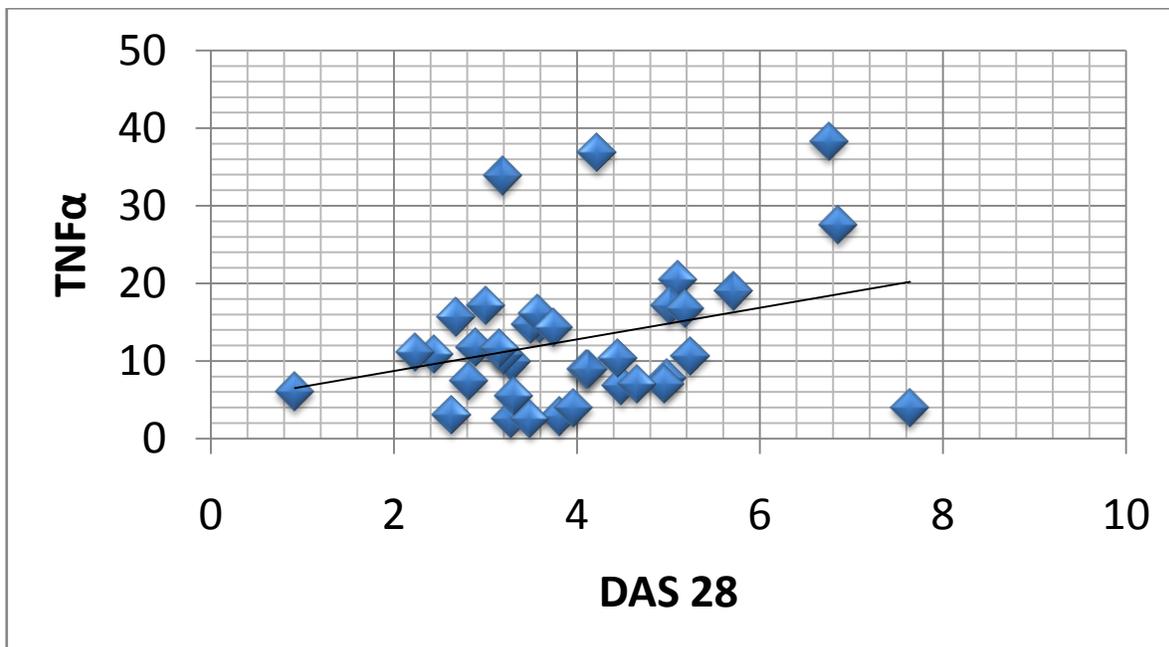
VARIABLES	CORRELACION (Rho)	SIGNIFICANCIA
DAS 28/IL-6	.280	0.093
DAS28/ TNF α	.306	0.066
DAS28/PAI-1	-.045	0.797
DAS28/CD40-L	.442	0.006
DAS28/PCR	.310	0.062
DAS28/FvW	.135	0.434

*Significancia $p < 0.05$, Correlación de Pearson.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

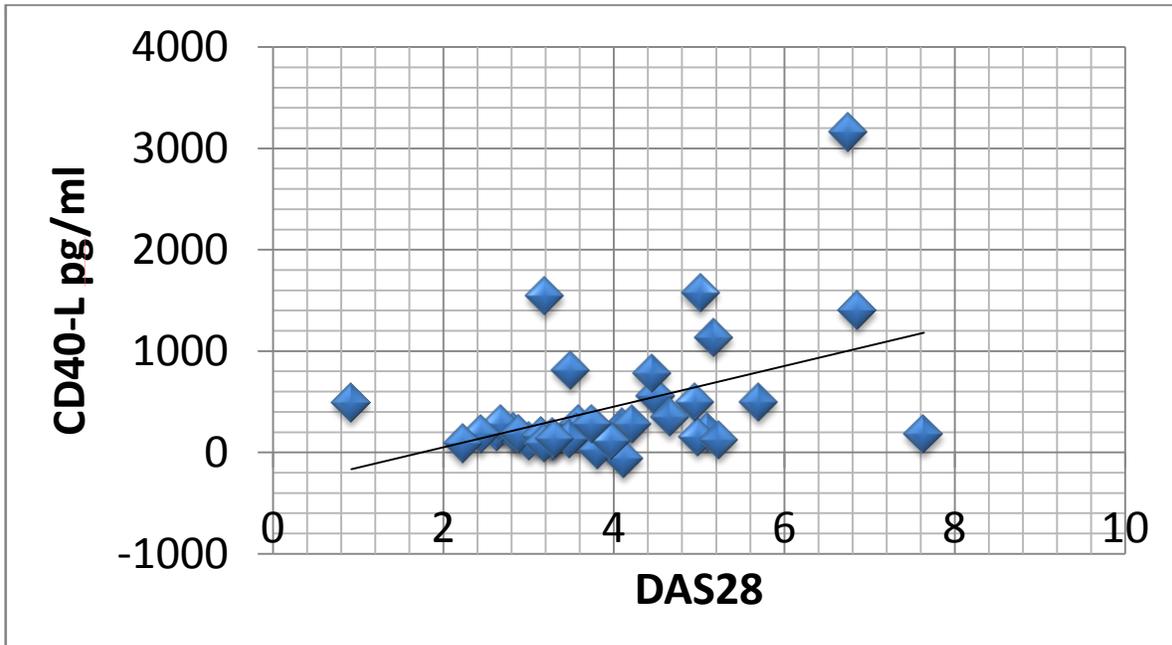
La tabla 6 muestra una correlación de Pearson entre la puntuación del DAS 28 que determina la actividad de la artritis en los pacientes y los biomarcadores tanto de daño endotelial como inflamatorios.

Encontramos significancia en la correlación de DAS 28 y CD40-L ($\rho=0.333$, $p=0.044$) y encontrando una tendencia en la correlación entre el DAS 28 con TNF α ($p=0.066$) y DAS 28 y PCR ($p=0.062$).



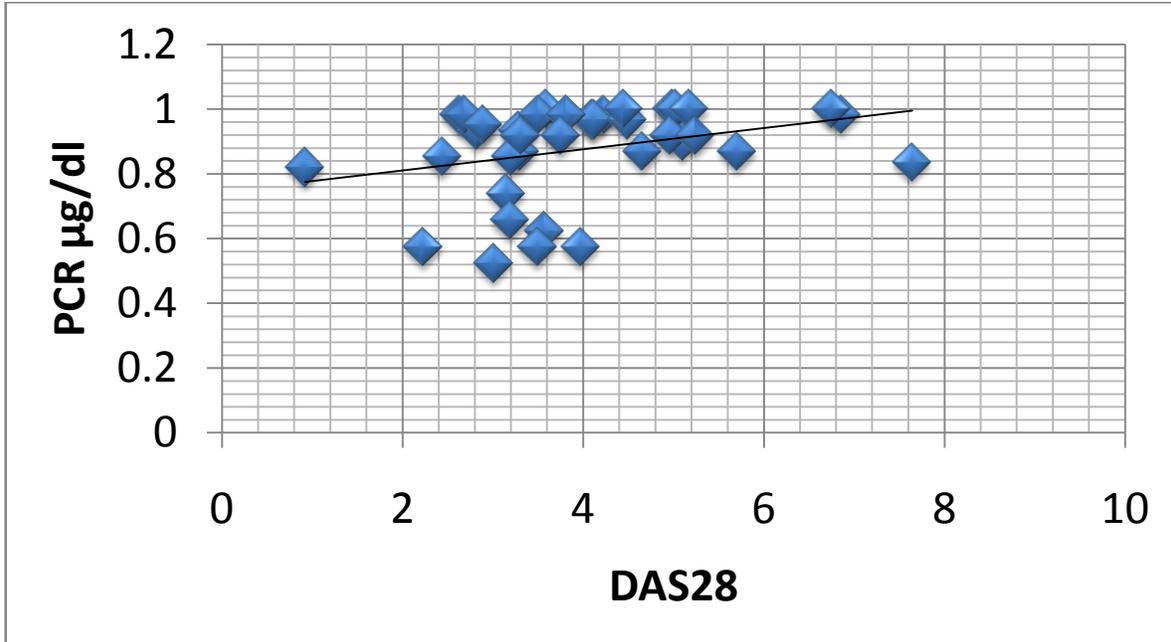
La figura 11 muestra una correlación de Pearson entre el TNF α y DAS 28 ($\rho=0.306$, $p=0.066$) mostrando una tendencia de correlación positiva.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.



La figura 12 muestra una correlación de Pearson entre CD40-L y DAS 28 ($\rho = .333$, $p=0.044$) encontramos una correlación positiva entre ambos datos.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.



La figura 13 muestra una correlación de Pearson entre PCR y DAS 28 ($\rho = .310$, $p=0.062$) Encontramos una tendencia de correlación positiva entre ambas variables.

Se hizo una correlación entre el nivel ya sea en plasma o suero de los biomarcadores y la presencia de síndrome metabólico encontrando una tendencia en el caso de ligando CD40 ($\rho = .36$, $p=0.052$) y el síndrome metabólico, esto solo en el caso de los controles; en el caso de los pacientes con AR no se encontraron datos de significancia.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Se realizó también una correlación entre el nivel de los biomarcadores y el tipo de tratamiento que tenían en ese momento solo los pacientes con AR, ya fuera metotrexato o algún tratamiento esteroideo, encontrando una tendencia en relación con el metotrexato y ligando CD40 ($\rho=.310$, $p=0.062$).

TABLA 7 CORRELACION DE BIOMARCADORES CON GROSOR DE COMPLEJO INTIMA MEDIA CAROTIDEA EN CASOS Y CONTROLES

VARIABLES	CASOS CONTROLES	Y	CORRELACION (Rho)	SIGNIFICANCIA
US/IL-6	n=61		.050	0.702
US/ TNF α	n=73		.409	<0.0001
US/PAI-1	n= 71		-.008	0.947
US/LCD40	n= 73		.033	0.780
US/PCR	n= 73		.138	0.246
US/ FvW	n= 72		.017	0.890

*Correlación de Pearson, significancia $p<0.05$

La tabla 6 muestra la correlación que se hizo entre la determinación del complejo intima media carotidea por US doppler y el nivel ya sea en plasma o suero de los biomarcadores, encontrando una correlación positiva entre el complejo y el TNF α . $\rho= .409$ y una significancia $p=<0.0001$.

También se hizo correlación entre ultrasonido y la PCR pero solo en los pacientes con AR y se encontró una $\rho=-.319$, una significancia de $p=0.054$.

TABLA 8 FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULARES ANTERIORES Y ACTUALES (DATOS CLINICOS)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Variable	Antes	Actual	Valor p
Genero (F/M)	31/6	31/6	
Edad (\bar{x}/DE)	44.30/14.85	46.89/14.90	0.001
TA sistólica (\bar{x}/DE)	125.19/15.03	131.84/22.99	0.092
TA diastólica (\bar{x}/DE)	76.08/11.03	78.22/11.30	0.419
Tabaquismo %	9/37 (24.3%)	11/37 (29.7%)	0.079
Sedentarismo %	19/37 (51.4%)	9/37 (24.3%)	0.03

*Prueba t, Significancia $p < 0.05$, para tabaquismo y sedentarismo prueba de Fisher, significancia $p < 0.05$.

La tabla 8 muestra una prueba t, para comparar los factores de riesgo cardiovasculares (solo datos clínico) que se midieron en el estudio previo (hace 2 años) y las determinaciones actuales en los pacientes con Artritis Reumatoide. Para comparar tanto el tabaquismo como el sedentarismo se realizó una tabla de contingencia 2x2 con una prueba de Fisher.

TABLA 9 FACOTORES DE RIESGO CARDIOVASCULARES ANTERIORES Y ACTUALES (DATOS DE LABORATORIO)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Variable	Antes	Actual	Valor p
Triglicéridos	139.97/45.09	147.30/68.14	0.542
HDL	51.99/23.33	44.76/11.90	0.078
LDL	84.95/23.25	104.44/31.31	<0.0001
Glucosa	91.51/16.60	105.84/16.74	0.014

*Prueba t, significancia $p < 0.05$

La tabla 9 muestra la comparación con una prueba t, de los factores de riesgo cardiovasculares que se determinaron en los pacientes hace dos años en comparación con las determinaciones actuales (datos de laboratorio).

También realizamos una comparación con la cuenta de plaquetas tomada hace dos años y la tomada en este estudio, encontrando en promedio la cuenta plaquetaria hace dos años en los pacientes de 273.84 y la cuenta plaquetaria en este estudio en promedio fue de 295.78 encontrando un valor de $p = 0.024$.

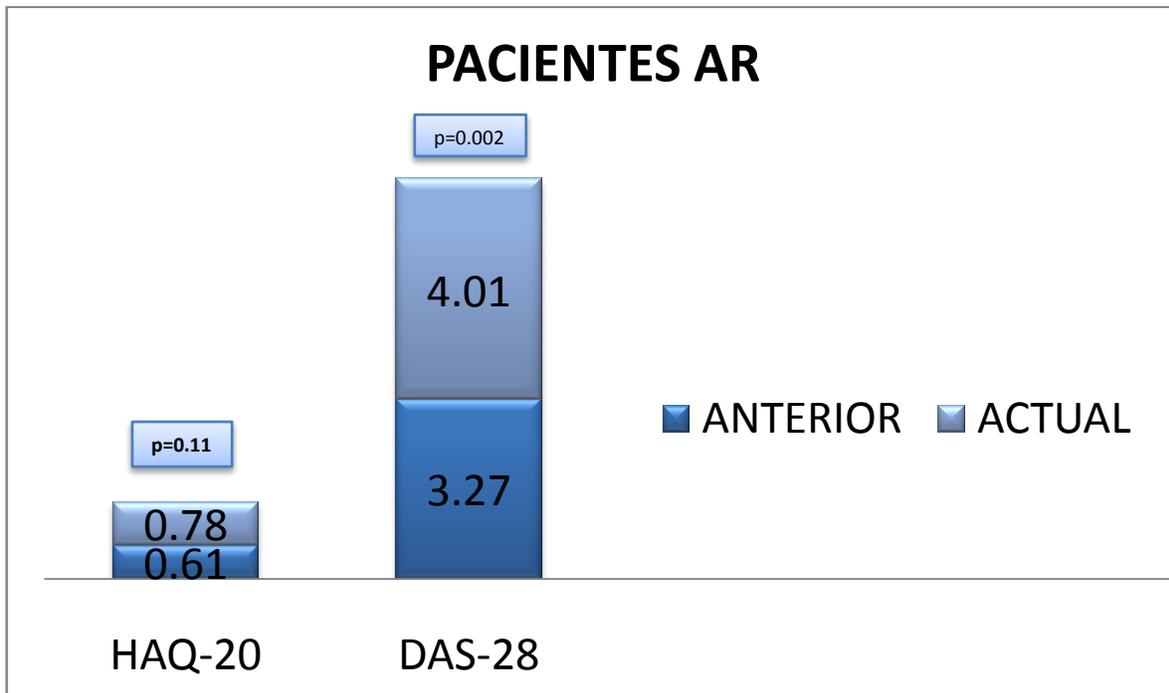
La comparación en el peso de los pacientes hace 2 años y actualmente. Hace dos años en promedio era de 63.33 kg y actualmente de 63.22 kg con valor de $p = 0.437$.

Comparación entre nivel de ácido úrico hace dos años en promedio fue de 3.80 y actualmente de 4.20 con un valor de $p = 0.133$

La insulina en los pacientes hace dos años fue en promedio de 13.77 y en nuestro estudio fue de 10.99 con un valor de $p = 0.028$

La puntuación de HOMA IR hace dos años en los pacientes fue en promedio de 2.98 y en nuestro estudio fue de 2.93 con un valor de $p = 0.880$.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.



La figura 14 muestra la puntuación de HAQ-20 que es un cuestionario que indica el grado de discapacidad que presentan los pacientes, entre mayor puntuación mayor grado de discapacidad funcional, sin mostrar diferencia significativa en la determinación del estudio previo y la determinación actual ($p=0.116$). También se muestra la puntuación de DAS28 que indica la actividad de la enfermedad, mientras más alta sea esta mayor actividad tiene la AR, encontrando una diferencia entre la determinación anterior y la nueva ($p=0.002$), siendo más alta en la determinación que hicimos actualmente y por lo tanto los pacientes tenían más actividad de la enfermedad.

8.-DISCUSION

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Al analizar los resultados obtenidos en este trabajo se encontró una diferencia significativa en la TA diastólica entre los pacientes y los controles, mostrando una p marginal de 0.052. La TA diastólica es regulada principalmente por la resistencia periférica, el 90% de la resistencia de los vasos arteriales ocurre en las arteriolas, manteniendo en equilibrio entre vasodilatación y vasoconstricción, esto debido a la función del musculo liso vascular. La resistencia periférica se altera también debido a cambios estructurales de las arteriolas (ateroesclerosis) y por cambios en la viscosidad de la sangre. (28)

Por lo tanto esta diferencia entre presiones diastólica entre pacientes AR y controles podría estar reflejando ya un cambio en la estructura y/o funcional endotelial arteriolar de los pacientes.

También se encontró una diferencia significativa en el consumo de tabaco siendo de un 27% en controles y de un 3% en pacientes AR. Así como diferencia en la escolaridad en años cursados, encontrando un total de años terminados en pacientes AR de 8.4 años en promedio y de 13.24 años en controles.

Cortés- Ramírez y Col reportaron en el 2006 la epidemiología del tabaquismo en México, determinando que se encontraba una mayor prevalencia entre las edades de 17 a 25 años, pero que también se mostraba un mayor consumo en personal de salud. (29) Esto a pesar de contar con una mayor información sobre los problemas de salud que el tabaquismo implica, así como un mayor grado de escolaridad.

En cuanto a las determinaciones de laboratorio que se hicieron entre pacientes y controles se encontró una diferencia significativa en la cuenta de plaquetas. Se encontró una media y desviación estándar de plaquetas en pacientes de 295/83 y en sujetos controles de 242/66 con un valor de $p=0.004$. En el 2009 el estudio de C Becker y Col y otros estudios han publicado las funciones de las plaquetas además de su función hemostática; haciendo referencia a las funciones de las plaquetas como células reguladoras tanto de inflamación como de actividad inmunológica. (30, 40, 41, 42)

Referían que se encontraban implicadas en enfermedades autoinmunes. En el caso de la AR determinaron que la cuenta de plaquetas se encontraba elevada en comparación con los sujetos controles tal como se muestra en nuestro estudio, además referían que esto se correlacionaba con actividad de la enfermedad. (30)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

También se encontró diferencia significativa en VSG entre pacientes y controles, los pacientes mostraron niveles séricos de 29.8 y en controles una media de 20.5, mostrando una $p=0.001$.

La VSG en AR es la proporción de la medición de eritrocitos sedimentados de sangre anticoagulada bajo condiciones estándares. Es una prueba de laboratorio no específica que indica un proceso inflamatorio o infeccioso. Puede tener variaciones de acuerdo al volumen de paquete globular, por lo que se debe solicitar con una fórmula roja para su debida interpretación. Es el reactante de fase aguda de elección para valoración de actividad de enfermedades reumáticas tales como Artritis Reumatoide. (31)

Es además un componente importante en la determinación de actividad de la enfermedad, por medio del DAS28. (8)

También encontramos diferencia con significancia estadística en los niveles de IL-6 de entre pacientes y controles, mostrando una media en los pacientes de 10.03 y una media en los controles de 4.6 pg/ml, con un valor de $p = 0.019$. Es conocido el papel que juegan las citocinas proinflamatorias en la fisiopatología de la Artritis Reumatoide, tales citocinas implicadas son la IL-1, IL-6 y TNF α .

El papel que juegan en la fisiopatología es preservar un entorno inflamatorio y de destrucción articular, que da los datos clínicos característicos de dolor y rigidez articular.

Estas citocinas se han correlacionado con alta actividad de la enfermedad y con resistencia al tratamiento. (39)

La IL-6 es una citocina sobre expresada en tejido sinovial de pacientes con Artritis Reumatoide, con altas concentraciones séricas y en tejido sinovial. (20)

En este estudio también se realizó la determinación de FvW. El FvW es una glucoproteína de alto peso molecular que se sintetiza y almacena en megacariocitos y células endoteliales. (17) En el 2010 se reportó que el aumento de citocinas proinflamatorias puede inducir también aumento del factor de Von Willebrand, y que este promueve agregación y adhesión plaquetaria. (21)

Los niveles plasmáticos del FvW se han estudiado en pacientes con AR y se ha encontrado una correlación de sus niveles con eventos cardiovasculares futuros.

Varios estudios han investigado diferentes biomarcadores asociados a disfunción endotelial, aterosclerosis y enfermedad cardiovascular, tanto en población general como

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

en pacientes con AR, entre estos factores tenemos a las moléculas de adhesión tanto celular como intracelular, E-selectina, PAI-1, t PA, FvW.(21)

Hay también estudios de asociación entre el FvW y el grosor del complejo intima media carotidea en pacientes con AR. (32)

Otra determinación que hicimos por técnica de ELISA fue el PAI-1, encontrando diferencia estadística entre pacientes y controles con una media en pacientes de 42.28 y en controles de 29.15 dando un valor de $p < 0.0001$.

El PAI-1 o inhibidor tisular del activador del plasminógeno tipo 1, es una glicoproteína, que tiene como función la inhibición fisiológica de los activadores tipo t PA y u PA, desempeñando por lo tanto un papel muy importante en la regulación de la fibrinólisis. (25)

El PAI-1 se encuentra aumentado en pacientes con enfermedad cardiovascular. Es conocido que regula la activación del plasminógeno a plasmina, encontrando que la plasmina degrada de forma tanto directa como indirectamente proteínas de la matriz de cartílago y hueso. Por lo que el PAI-1 está involucrado indirectamente en la degradación de cartílago y hueso en pacientes con Artritis Reumatoide, así como con el aumento de morbilidad y mortalidad por enfermedad cardiovascular. (33)

Mc Bane y Col refieren la asociación entre la edad avanzada y altos niveles de PAI-1 y su implicación en aumento de morbilidad y mortalidad cardiovascular (55)

Se ha encontrado también que altos niveles de PAI-1 se asocian con hiperglicemia y por lo tanto con síndrome metabólico y DM; así como hay estudios que lo asocian directamente con aumento en el grosor de la íntima arterial, esto debido a aumento en la remodelación vascular. (56,57)

Por tal motivo se ha estudiado hasta ahora en animales de experimentación la inhibición en la expresión de PAI-1 como un tratamiento antitrombótico. (58)

Otra determinación por técnica de ELISA fue del ligando CD40 (CD40-L). El CD40 es una proteína integral de membrana que se encuentra en todas las células presentadoras de antígeno, Células T, endotelio vascular, queratinocitos y fibroblastos. El ligando CD40 (CD40-L, CD154, gp39) es también una proteína de membrana que se expresa predominantemente en los linfocitos T CD4 activados, pero también en linfocitos T CD8+, eoisinófilos, mastocitos, basófilos, natural killer y células dendríticas. (22)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Las interacciones de CD40/CD40-L son pieza clave en la regulación de numerosos procesos de activación del sistema inmune. (34)

El CD40 es actualmente conocido como una proteína protrombótica y proinflamatoria, teniendo un papel en la progresión de la aterosclerosis y eventos cardiovasculares.

Hay estudios que reportaron la asociación de CD40-L con aterosclerosis, refiriendo que el CD40-L podría afectar el proceso de aterosclerosis a diferentes niveles incluyendo la migración de células mononucleares en áreas de la placa aterosclerótica, activación de las células T, producción de citocinas, activación de macrófagos y presentación local de antígenos. (35, 53, 54)

En el año 2009 Jane Worthington reporto una asociación entre anomalías en el gen que expresa el CD40 y la susceptibilidad para padecer Artritis Reumatoide en una cohorte de población inglesa. (36)

También se realizó correlaciones entre el DAS 28 que indica el grado de actividad de la enfermedad en los pacientes con Artritis Reumatoide y la determinación de TNF α , encontrando una rho=.306 y un valor de p=0.066. El DAS 28 valora número de articulaciones dolorosas, número de articulaciones inflamadas, Velocidad de sedimentación globular y estado general del paciente por medio de una escala visual análoga. Clínicamente los pacientes con AR refieren dolor e inflamación articular, que de hecho es debida en parte al exceso en la producción de citocinas tales como el TNF α . Esta producción tiene un ciclo circadiano que aumenta durante la madrugada por lo que al paciente le da la característica de rigidez articular al inicio del día y que mejora con el paso de la mañana. (20)

También encontramos una correlación positiva entre DAS28 y PCR. La proteína c reactiva es un reactante de fase aguda muy utilizado en la valoración de pacientes reumatológicos tales como pacientes con AR y se ha propuesto como parte integral del DAS 28, en el 2010 Isabel Castrejón y Col refirieron que la VSG (parte del DAS 28) podría ser sustituida por la PCR debido a que la VSG era fácilmente influenciada por otros factores como edad y género. (37)

Aunque en la actualidad el DAS 28 con VSG es más utilizado tanto en la práctica clínica como en investigación, la PCR se puede correlacionar con el DAS28. (22)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Se encontró correlación positiva entre DAS28 y CD40-L, con un valor rho=.333 y un valor de $p=0.044$.

En el año 2000 Beate Berner y Col ya lo nombraron como marcador de actividad de la enfermedad en Artritis Reumatoide. Ellos referían que la interacción entre inducción de activación en la glicoproteína de superficie CD40-L en células T CD4+ y su receptor CD40 que se expresa en varios tipos celulares juega un papel crucial en numerosas reacciones inmunes tanto humorales como celulares y referían que probablemente en la patología de AR. Concluyendo que estaba relacionado con mayor actividad de la enfermedad y por lo tanto con un pronóstico desfavorable. (34)

Finalmente se encontró una correlación positiva entre el aumento del grosor del complejo íntima media carotídea medido por ultrasonido doppler y los niveles de TNF α .

Al respecto hay literatura que refiere que las señales dadas por las citocinas tales como TNF α tienen múltiples efectos en la función de células vasculares y pueden generar lesión. Refieren que la producción de estas citocinas es nula o baja en vasos normales, sin embargo se puede encontrar aumentada en patología vascular. Por lo que el nivel de TNF α podría encontrarse aumentado en pacientes con disfunción endotelial, enfermedad aterosclerótica y franca enfermedad cardiovascular, tal como se muestra en la correlación en este estudio. (38, 46,)

Se hizo una comparación en la presencia de factores de riesgo para enfermedad cardiovascular en los pacientes con AR en las determinaciones hechas hace dos años y las actuales. Encontrando que el tabaquismo estaba presente en 9 pacientes hace dos años y que incremento a 11, que el sedentarismo se encontraba en 11 pacientes con AR hace dos años y que bajo a estar presente en 9 pacientes. Los triglicéridos en estos mismos pacientes en promedio hace dos años eran de 139.97 y actualmente de 147.30, el HDL hace dos años en promedio fue de 51.99 y actualmente de 44.76. LDL hace dos años en promedio fue de 84.95 y actualmente de 104.44 $p<0.001$. La determinación de glucosa en promedio hace dos años fue de 91.51 y actualmente se sacó un promedio de 105.84 con un valor de $p=0.014$.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

Varios estudios realizados en últimos años han buscado el determinar la causa del aumento de mortalidad por enfermedad cardiovascular en los pacientes con artritis reumatoide; varios de ellos han asociado con los factores de riesgo tradicionales, refiriendo que los pacientes con AR presentan más sedentarismo a consecuencia de la inflamación y del dolor articular o que el tratamiento con esteroides aumenta niveles de glucosa o un perfil de lípidos aterogénico.

Sin embargo el aumento debido a enfermedad cardiovascular en estos pacientes no es del todo explicada por aumento simplemente de los factores de riesgo, se ha asociado también a la inflamación que se presenta de manera crónica y sistémica. Se sabe que la aterosclerosis en inicio es un proceso inflamatorio también. (47, 48, 49, 50)

Por tal motivo Jonh y Col en 2011 hablan de la artritis reumatoide como factor de riesgo cardiovascular por si sola y lo comparan con la diabetes mellitus como riesgo para enfermedad cardiovascular. (51, 52)

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

9.- RESUMEN DE RESULTADOS

- Encontramos diferencia significativa entre pacientes y controles en la cuenta de plaquetas, como es el caso de pacientes con enfermedades crónicas inflamatorias tal como la Artritis Reumatoide.
- Encontramos diferencia al comparar entre pacientes y controles los niveles de biomarcadores inflamatorios tal como la IL-6 pero no fue así al comparar niveles de TNF α .
- Al comparar niveles de biomarcadores de daño endotelial entre pacientes y controles, encontramos aumentados en los pacientes el PAI-1, CD40-L, FvW y PCR.
- Al hacer la correlación entre puntuación de DAS28 (actividad de la enfermedad) y TNF α encontramos una p marginal de 0.066, entre DAS28 y CD40-L p=0.044 y finalmente entre DAS 28 y PCR p marginal de 0.062.
- Se encontró una correlación positiva entre el grosor del complejo íntima media carotídea y el nivel de TNF α con una p<0.001

10.-CONCLUSIONES

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

En el presente estudio tal como lo reporta la literatura encontramos diferencia al analizar la determinación de diferentes biomarcadores tanto inflamatorios como de daño endotelial. Encontrándose más alta en los pacientes con AR.

No es así en el caso de la presencia de factores de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular, tales como presencia de hipertensión, nivel de triglicéridos, HDL, LDL, glucosa, ácido úrico, tabaquismo y sedentarismo.

En cuanto a las determinaciones de la prueba clínica de función endotelial y medición del complejo intima media carotidea por ultrasonido doppler, a diferencia de la literatura no encontramos diferencia entre el grupo de pacientes con AR y los controles y esto es debido probablemente en el caso de la prueba clínica de función endotelial a que es una prueba con muchas variables que controlar y que podrían alterar los resultados. Aunque es una prueba de fácil acceso es una prueba que podría presentar variaciones de resultados en un mismo paciente.

En las correlaciones que realizamos entre grado de actividad de la enfermedad (DAS28) y biomarcadores nos llama la atención la correlación positiva que se encontró entre el CD40-L y DAS-28, ya que principalmente este biomarcador se asocia con el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular.

Otra correlación que hicimos fue entre grosor del complejo intima media carotidea y el nivel del $TNF\alpha$, que aunque ya hay literatura al respecto que relaciona el nivel de $TNF\alpha$ con daño aterosclerótico no encontramos una referencia que lo correlacionen directamente.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

11.-PERSPECTIVAS

Estudiar una cohorte de pacientes con AR a más largo plazo, es decir tener un seguimiento de estos pacientes desde el inicio de su diagnóstico hasta 10 años de evolución controlando los factores de riesgo para enfermedad cardiovascular, de tal manera que al hacer la medición tanto en inicio de disfunción endotelial como posteriormente aterosclerosis o ya una franca enfermedad cardiovascular sea explicada por la propia enfermedad reumática, el proceso inflamatorio crónico y sistémico, que por los factores de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular.

Seria de utilidad en estos pacientes el determinar cuál de estos biomarcadores es el que más les da un valor predictivo para desarrollar enfermedad cardiovascular a futuro y que se les puedan hacer determinaciones periódicas para controlar tal riesgo.

12.- BIBLIOGRAFIA.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

1. Alarcón D, Molina J, Molina JF, Catoggio L, Cardiel MH, Angulo JM. Tratado hispanoamericano de reumatología. Ed Nomos S.A. Colombia. 2007.
2. Solomon DH, Goodson NJ, Katz JN, Weinblatt ME, Avorn J, Setoguchi S, Canning C. Patterns of cardiovascular risk in rheumatoid arthritis. *Ann Rheumatoid Desases* 2006;65:1608-1612
3. Davignon J MD, Ganz P MD. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004; 109 (suppl III): III-27-III-32.
4. Ruiz A, García A, Sánchez A, Rubió B, Collantes E, Cruz J, Gratacos J, Laffón A, Martín E, Martínez V, Rodríguez C, Tornero J. Manual SER de las enfermedades reumáticas.
5. Rojas W, Anaya JM, Aristizábal B, Cano LE, Gómez LM, Lopera D. Inmunología de Rojas. Ed Corporación para investigaciones Biológicas. 15ª edición. 2010.
6. Harrison T R, Braunwald E, Fauci A, kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson L. Principios de medicina interna. 15ª edición. Mc graw Hill. 2002.
7. Aletana D, Neogi T, Silman A J, Funovitis J, Felson D T, Bingham C O, Birnbaum N S, Burmester G R, Bykerk V P, Cohen M D, Combe B, Costenbader K H, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes J M, Hobbs K, Huizinga T W, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Menard H A, Moreland L W, Naden R L, Pincus T, Symmons D, Tak P P , Upchurch K S, Vencousky J, Wolfe F, Hawker G. 2010 Rheumatoid arthritis classification criterion american collage of rheumatism/ European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis* 2010; 69(9): 1580-8.
8. John Svirbely, Paul Emery MA, Medal Reumatología. Serie Springer de algoritmos médicos. Ed Springer. 2009.
9. Hema S, Bagry M.D., D.N.B., F.R.C.A, Franco Carli, M.D., M. Phil. Metabolic Syndrome and Insulin Resistance. *Anesthesiology* 2008; 108:506-23.
10. Karvounaris SA, Sidiropoulos PI, Papadakis JA, Spanakis EK, Bertias GK, Kritikos HD, Ganotakis ES, Boumpas DT. "Metabolic syndrome is common among middle to older aged Mediterranean patients with rheumatoid arthritis and correlates with disease activity: a retrospective, cross-sectional, controlled, study". *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 28-33.

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

11. Oppenheimer GM. Becoming the framingham study. 1947-1950. American Journal of Public Health. 2005; 95(4): 602- 610
12. Chain S, Luciardi HL, Feldman G, Valberdi A. El espesor íntima- media carotídeo, un marcador de aterosclerosis subclínica y riesgo cardiovascular. Importancia de su valoración y dificultades en su interpretación. Rev Fed Arg Cardiol. 2005; 34: 392-402.
13. Carranza Madrigal J, Sánchez Contreras LF. Propuesta de un método de exploración para evaluar, desde el punto de vista clínico, la función endotelial en humanos. Med Int Mex 2005; 21: 171-5.
14. Verdejo Paris J. Función endotelial. Archivos de Cardiología de México. 2006.7;76: 164- 169
15. Esper RJ, Nordaby RA, Vilariño JO, Paragano A, Cacharrón JL and Machado RA. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. Cardiovascular Diabetology 2006. 5:4.
16. Hua Cai, David G, Harrison. Endothelial Dysfunction in cardiovascular diseases. Circulation Research. 2000;87: 840-844
17. Martínez Murillo C, Quintana González S. Hemostasia y Trombosis. Ed Prado. 2ª edición. 2008.
18. González Buitrago JM, Ferreira L, Muñiz MC. Proteómica clínica y nuevos biomarcadores en los líquidos biológicos. Medicina clínica 2008;13 (11): 426-34
19. Smolen JF, Beaulieu A, Rubbert- Roth A, Ramos- Remus C, Rovensky J, Alecock E, Woodworth T, Alten R. Effect of interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis (OPTION study): a double- blind, placebo- controlled, randomised trial. Lancet 2008, 371: 987-97.
20. M G Perry, J R Kirwan, DS Jessop, LP Hunt. Overnight variations in cortisol, interleukin 6, tumor necrosis factor α and other cytokines in people with rheumatoid arthritis. Ann Rheumatology diseases. 2009; 68: 63-68
21. Faisal Khan. Assessment of endothelial function as a marker of cardiovascular risk in patients with rheumatoid arthritis. International Journal of rheumatic diseases. 2010; 13: 189-195

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

22. Castrejón I, Ortiz A M, Toledano E, Castañeda S, Garcia- Vadillo A, Patiño E and González- Álvaro I. Estimated cutoff points for the 28- joint disease activity score basedon C- reactive protein in a longitudinal register of early arthritis. *The Journal of Rheumatology*. 2010; 37:1439-1443
23. Kooten CV, Banchereau J. CD40- CD40 ligand. *Journal of leukocyte biology*. 2000; 67: 1-16
24. Peter A L, Stunz L and Bishop G A. CD40 and autoimmunity: the dark side of a great activator. *Semin Immunology*. 2009;21 (5): 293-300
25. Nolasco M, Salcedo M, Vázquez- Ortiz G. Activación del sistema plaminógeno- plasmina y el papel del PAI-1 en patologías humanas. *Cancerología 2*; 2007: 171-183
26. Södergren A, Karp K, Boman K, Eriksson C, Lundström E, Smedby T, Söderlund L, Rantapaa- Dahlgvist S, Wallberg- Jonsson S. Atherosclerosis in early rheumatoid arthritis: very early endothelial activation and rapid progression of intima media thickness. *Arthritis Research and therapy* 2010;12, 4
27. Lequin R M. Enzyme immunoassay (EIA)/ Enzyme- linked immunosorbent assay (ELISA) *Clinical chemistry*. 2005; 51(12): 2415- 2418
28. Ganong WF. *Fisiología Médica*. Ed Manual Moderno.1998. 16ª edición. 641- 659.
29. Kiri Morales PA, González Roldán JF, Hoy MJ, Cortés Ramírez M. Epidemiología del tabaquismo en México. *Salud pública de México*. 2006;48(1):s91- s98
30. Smyth SS, Mcever RP, Weyrich AS, Morrell CN, Hoffman MR, Arepally GM, French PA, Dauerman HL and Becker RC. Platelet functions beyond hemostasis. 2009;7: 1759- 1766
31. Rodak B. *Hematología, Fundamentos y aplicaciones clínicas*. Editorial panamericana. 2a edición. 168-169
32. Romero JR, Vasan RS, Beiser AS, Polak JF, Benjamin E, Wolf PA and Seshadri S. Association of carotid artery atherosclerosis with circulating biomarkers of extracellular matrix remodeling: The framingham offspring Study. *J Stroke Cerebrovascular Disease*. 2008; 17 (6): 412-417
33. Torres Carrillo N, Torres Carrillo NM, López Serna MA, Preciado DA, Romero E, Vázquez del Mercado M, Muñoz Valle F. Polimorfismo HIND III del gen PAI-1 y

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

- niveles de expresión de la proteína PAI-1 en pacientes con Artritis Reumatoide. *Bioquímica* 2007; 32
34. Berner B, Wolf Gabriele, Hummel KM, Müller GA, Reuss- Borst MA. Increased expression of CD40 ligand (CD154) on CD4+ T cells as a marker of disease activity rheumatoid arthritis. *Ann Rheumatoid Diseases* 2000;59: 190-195
35. Laman JD, Boer M, Hart BA. CD40 in clinical inflammation: from multiple sclerosis to atherosclerosis. *Developmental Immunology* 1998; 6: 215-222
36. Orozco G, Eyre S, Hinks A, Wilson A G, Ebax D, Morgan AW, Emery P, Stter S, Hocking L, Reid DM, Wordsworth P, Harrison P, Thomson W, Barton A, Worthington J. Association of CD40 with rheumatoid arthritis confirmed in a large UK case-control study. *Ann Rheumatoid Diseases* 2010;69: 813- 816
37. Simón Campos JA, Padilla Hernández RO. Correlación de PCR y velocidad de sedimentación globular con la actividad de la artritis reumatoide. *Revista Médica Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2008.;46 (6): 591-596
38. Raines E W, Ferri N. Cytokines affecting endothelial and smooth muscle cells in vascular disease. *Journal of lipid research*. 2005; 46: 1081-1092
39. Paz B, Alperi- López M, Ballina- Garcia F, Prado C, Gutiérrez C and Suarez A. Cytokines and regulatory T cells in rheumatoid arthritis and their relationship with response to corticosteroids. *The Journal of Rheumatology* 2010; 37(12): 2502- 2509
40. Puddu P, Muscari A, Puddu GM, Cravero E, Giannoni C, Zoli M. The complexity of platelet metabolism and its contribution to atherothrombosis. *Acta Cardiol* 2009; 69(2): 157-165
41. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *The new England journal of medicine*. 2007;357: 2482-94
42. Von Hundelshausen P, Weber C. Platelets as immune cells. *Circulation Research*. 2007;5(19): 27-36
43. Vaudo G, Marchesi S, Gerli R, Allegrucci R, Giordano A, Siepi D, Pirro M,Shoenfeld Y, Schillaci G, Mannarino E. Endothelial dysfunction in Young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity. *Ann Rheumatoid Diseases*. 2004; 63: 31-35

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

44. Herbrig K, Haensel S, Oelschlaegel U, Pistrosch F, Foerster S, Passauer. Endothelial dysfunction in patients with rheumatoid arthritis is associated with a reduced number and impaired function of endothelial progenitor cells. *Ann Rheumatoid diseases*. 2006; 65: 157-163
45. Kawashima S, Yokoyama M. Dysfunction of endothelial Nitric oxide synthase and atherosclerosis. *Atheroscler Thrombosis Vascular Biology*. 2004; 24: 998- 1005
46. Dixon WG, Symmons. What effects might anti- TNF α treatment be expected to have on cardiovascular morbidity and mortality I n rheumatoid arthritis? A review of the role of TNF in cardiovascular pathophysiology. *Ann Rheumatoid Diseases*. 2007; 66: 1132- 1136
47. Gonzalez A, Maradit Kremers H, Crowson CS, Ballman KV, Roger VL, Jacobsen JS, O'Fallon WM, Gabriel SE. Do cardiovascular risk factor confer the same risk for cardiovascular outcomes in rheumatoid arthritis patients as in non- rheumatoid arthritis patients? *Ann Rheumatoid Diseases*. 2008;67: 64-69
48. Kumar N, Armstrong. Cardiovascular disease, the silent killer in rheumatoid arthritis. *Clinical medicine*.2008;8(4): 384-387
49. Turesson C, Jarenros A, Jacobsson L. Increased incidence of cardiovascular disease in patients with rheumatoid arthritis: results from a community based study. *Ann Rheumatoid diseases*. 2004; 63: 952-955
50. Holmqvist ME, Wedrén S, Jacobsso L TH, Klareskog L, Nyberg F, Rantapää-Dahlqvist S, Alfredsson L, Askling j. No increased occurrence of ischemic heart disease prior to the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*; 60(10): 2861- 2869
51. Jonh H, Toms T E, Kitas GD. Rheumatoid arthritis: is it coronary heart disease equivalent? *Current opinion in cardiology*. 2011; 26: 327-333
52. Willerson JT, Ridker PM. Inflammation as a cardiovascular risk factor. *Circulation* 2004;109: II-2-II-10
53. Lemos JA, Zirlik A, Schönbeck U, Varo N, Murphy SA, Khera A, Mc Guirre D, Stanek G, Nuzzo R, S Lo H, Morroe DA, Peshock R, Libby P. Associations between soluble CD40 ligand, atherosclerosis risk factors and subclinical atherosclerosis: results from

BIOMARCADORES DE DISFUNCION ENDOTELIAL EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE Y SU RELACION CON ACTIVIDAD CLÍNICA, TRATAMIENTO Y SÍNDROME METABÓLICO.

- the Dallas Heart Study. *Atherosclerosis, thrombosis and vascular biology*. 2005; 25: 2192- 2196
54. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Van den Brand MJ, Boersma E, M-Zei her A, L-Simmons M. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *The New England journal of medicine*. 2003;348: 1104-1111
55. Mc Bane RD, Hardisson RM, Sobel BE. Comparison of levels of plasminogen activator inhibitor-1 tissue type plasminogen activator antigen, fibrinogen and D-dimer in various age decades in patients with type 2 diabetes mellitus and stable coronary artery disease (from the BARI 2d Trial). *Am J Cardiology*. 2010; 105 (1): 17
56. Rikitake Y, Liao J. Rho- Kinase mediates Hyperglycemia induced plasminogen activator inhibitor 1 expression in vascular endothelial cells. *Circulation*. 2005; 111(24): 3261-3268
57. Wu J, Peng L, Mc Mahon GA, Lawrence DA, Fay WP. Recombinant plasminogen activator inhibitor- 1 inhibits intimal hyperplasia. *Atherosclerosis Thrombosis Vascular Biology*. 2009; 29(10): 1565- 1570
58. Izuhara Y, Yamaoka N, Kodama H, Dan T, Takizawa S, Hira Yama N, Meguro K, Van Ypersele C, Miyata T. A novel inhibition of plasminogen activator inhibitor -1 provides antithrombotic benefits devoid of bleeding effect in nonhuman primates. *Journal of cerebral Blood flow and metabolism*. 2010; 30: 904-912