

**Implicación funcional de CD69 E interleucina-15 en la perpetuación de la sinovitis reumatoide. Efecto de diversos fármacos modificadores de la enfermedad en este mecanismo patogénico**

A.M. Ortiz-García

*Universidad:* Universidad Autónoma de Madrid.

*Fecha:* 9 de julio del 2004.

*Directores:* Dr. Isidoro González Álvaro y Dr. Armando Laffon Roca.

*Realizada en:* Departamento de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid.

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria y sistémica que se caracteriza por provocar inflamación crónica y deterioro progresivo de las articulaciones diartrodiales, así como una gran variedad de manifestaciones extraarticulares. Las consecuencias a corto y largo plazo de la enfermedad, la discapacidad, la disminución de la calidad y la esperanza de vida tienen como efecto directo elevados costes sociales. Su etiología es desconocida, aunque se ha avanzado mucho en el conocimiento de los mecanismos patogénicos que conllevan a la perpetuación de la inflamación que caracteriza la enfermedad, lo que está permitiendo, ya en la actualidad, el desarrollo de fármacos más eficaces en su control. Dentro de estos mecanismos patogénicos, se han descrito varios modelos en los que el contacto de linfocitos activados induce la producción de factor de necrosis tumoral (TNF), molécula clave en la patogenia de la enfermedad, por células de estirpe macrófaga. En este trabajo se profundiza en la importancia de los linfocitos, la interleucina (IL)-15 y el CD69 en la patogenia de la AR, así como en el estudio de probables mecanismos de acción de fármacos empleados actualmente en el tratamiento de esta afección. Hemos descrito valores elevados de IL-15 tanto en el suero como en el líquido sinovial (LS) de pacientes con AR y no en pacientes con otras artropatías. Además, se describen valores mayores de esta citocina en pacientes con enfermedad de larga evolución y la correlación existente entre éstos y el número de tratamientos prescritos al paciente. No se ha descrito correlación con parámetros de actividad de la enfermedad. Por lo tanto, podría utilizarse la IL-15 como una determinación que permitiría diferenciar a los pacientes que van a desarrollar una AR de los que presentan otro tipo de enfermedad inflamatoria y, además, podría considerarse dicha citocina como un marcador pronóstico de la enfermedad en el caso de la AR. Se describe, también, una mayor expresión de CD69 en linfocitos de LS y cómo la IL-15 es, de las citocinas presentes en el ambiente sinovial, la que induce una mayor expresión de CD69 en linfocitos de sangre periférica (SP). IL-15 reproduce, en linfocitos de SP, la expresión de

CD69 en las subpoblaciones linfocíticas que lo expresan preferentemente en el LS. Todo esto hace pensar en un papel "específico" de la IL-15 en la AR frente a otras enfermedades inflamatorias. También se caracteriza, en este trabajo, un modelo de producción de TNF por células de estirpe monocitomaqurofágica mediado por contactos intercelulares entre éstas y los linfocitos de SP estimulados con IL-15 y se demuestra el papel preponderante de CD69 en estos contactos intercelulares. Finalmente, se profundiza en el estudio del efecto de distintos fármacos modificadores de la AR sobre ese modelo y se demuestra cómo ciclosporina A y A77-1726, metabolito activo de la leflunomida, inhiben tanto la expresión de CD69 inducida en linfocitos de SP por IL-15, como la inducción en la producción de TNF mediada por contactos intercelulares en el modelo descrito anteriormente. Ambos efectos son dependientes de la dosis y se correlacionan entre sí para ambos fármacos, cuyo efecto es, además, aditivo. Por lo tanto, éste podría ser uno de los mecanismos de acción por el que ambos fármacos resultan eficaces en el tratamiento de la AR, efecto no explicado por los mecanismos de acción clásicos descritos.

**Estudio sobre el manejo de la artritis reumatoide en España (emAR)**

V. Villaverde-García

*Universidad:* Universidad Autónoma de Madrid.

*Fecha:* 29 de julio del 2004.

*Directores:* Dr. César Hernández García y Dr. Emilio Martín Mola.

*Realizada en:* Servicio de Reumatología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. España.

Existe una amplia variabilidad en la disponibilidad, acceso, seguimiento y utilización de medios diagnósticos y terapéuticos en los pacientes con artritis reumatoide (AR) en España. Esta variabilidad puede estar relacionada con la incertidumbre sobre la evidencia científica, diferencias individuales, las características y recursos de los centros donde son atendidos los pacientes o cambios en los valores sociales. Pero también podría estar relacionada con deficiencias en las habilidades del médico, mala organización de la institución, ignorancia o deliberada decisión de no utilizar prácticas preferibles, sobre las que existe evidencia probada de su superioridad. La identificación de las áreas en las que existe una mayor variabilidad en la práctica clínica, así como sus posibles causas, puede contribuir a establecer estrategias de planificación de la atención sanitaria dentro del Sistema Nacional de Salud que beneficie a los pacientes y no consuma recursos innecesariamente. En este contexto, los enfermos con AR y los médicos que les atienden,

se podrían beneficiar en nuestro medio del desarrollo de estándares de calidad en forma de guía de práctica clínica.

### **Estudio comparativo de la densidad mineral ósea entre mujeres menopáusicas normotensas e hipertensas**

R. Sánchez-Parera

*Universidad:* Universidad de Granada.

*Fecha:* 23 de septiembre del 2003.

*Directores:* Dr. Enrique Raya Álvarez, Dr. Luis González Gomez y Dr. Blas Gil Extremera.

*Realizada en:* Hospital Universitario San Cecilio de Granada. Granada. España.

#### **Objetivo**

Determinar si la hipertensión arterial (HTA) se asocia a una menor masa ósea o a osteoporosis comparando la densidad mineral ósea (DMO) entre mujeres menopáusicas normotensas e hipertensas.

#### **Pacientes y método**

Se incluyó a 84 mujeres menopáusicas hipertensas y 26 normotensas en las consultas de reumatología, Unidad de Hipertensión y Menopausia del Hospital Universitario San Cecilio de Granada que no presentaban ninguna otra enfermedad general, ni trastorno óseo metabólico a las que se realizó historia clínica, analítica general que incluyó parámetros de metabolismo óseo y DEXA. Se comparó mediante los análisis estadísticos oportunos la DMO entre ambos grupos de mujeres y se utilizó un estudio de correlación lineal entre las cifras de presión arterial y las de DMO y un estudio de regresión lineal múltiple que incluyó otras variables como el índice de masa corporal, la edad, los años de evolución de la menopausia y diversos hábitos higienicosanitarios.

#### **Resultados**

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la DMO entre ambos grupos de mujeres. Tampoco se halló una correlación entre las cifras de presión arterial y de DMO. El estudio de regresión lineal múltiple mostró una débil correlación negativa entre las cifras de presión arterial sistólica y la DMO en cuello femoral, es decir, que a mayor presión arterial sistólica menor era la DMO en cuello femoral.

#### **Conclusiones**

La HTA no causa pérdida de masa ósea, ni se asocia a osteoporosis.

### **Palabras clave**

Densidad mineral ósea (DMO). Osteoporosis. Hipertensión arterial. Menopausia.

### **Asociación del complejo mayor de histocompatibilidad con la respuesta al tratamiento con infliximab en la artritis reumatoide**

M. Salido-Olivares

*Universidad:* Universidad de Córdoba.

*Fecha:* 3 de noviembre del 2004.

*Directores:* B. Fernández-Gutiérrez y E. Gómez de la Concha.

*Tutor:* E. Collantes Estévez.

*Realizada en:* Servicio de Reumatología e Inmunología del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Madrid. España.

#### **Objetivo**

Determinar si el polimorfismo del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) se asocia a la respuesta al tratamiento con infliximab en la artritis reumatoide (AR).

#### **Pacientes y método**

Se incluyó a 78 pacientes con AR refractaria al tratamiento previo con otros FAME, que se trataron consecutivamente con infliximab de 2001 a 2002 en los servicios de reumatología del Hospital Clínico San Carlos y La Paz de Madrid. Como grupo control se empleó a 342 individuos. Se recogieron variables clínicas y analíticas antes de la terapia y a los 3 meses de iniciarla. Se consideraba paciente respondedor (PR), si existía una mejoría  $\geq 50\%$  del valor inicial del NAD, NAT y de 2 o más de estos criterios: proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, HAQ o VAS. Se consideraba también PR si presentaba un 25% de mejoría del valor inicial absoluto del DAS 28. Al año se valoró el grado de respuesta mantenida. En el estudio bivariante de características basales se utilizaron las pruebas  $h^2$  y de la  $t$  de Student, dependiendo de si la variable era cualitativa o cuantitativa, respectivamente. En el estudio genético se utilizó la  $h^2$  y la *odds ratio*, y la prueba exacta de Fisher en casos esperados  $< 5$ .

#### **Resultados**

Presentaban una media de 56,88 años (22-88 años), predominio de mujeres (76,9%), duración media de la AR de 10 años y FR+ en un 84,62%. La mayoría fueron tratadas con terapia combinada con más de 2 FAME. Todos presentaban criterios de actividad al inicio. Tras la terapia se consideraron PR 41 y como

paciente no respondedor (PNR) 37. Al año mantenían la terapia 56 pacientes (35 PR y 21 PNR).

Los haplotipos microsatélites de TNF no presentaban diferencias, excepto TNF-a11b4c1d3e3 (41% PR y 16% PNR). Tampoco las presentaban los alelos del epítipo compartido y los microsatélites MICA, D6S2223 y BAT2. El único alelo incrementado en PNR fue D6S273\_3 ( $p = 0,04$ ,  $OR = 0,37$ ). Este alelo se asocia al BAT2\_2 en población control. En nuestro caso, esta asociación se mantenía en PNR (85%) pero no en PR (46%) con una  $p = 0,02$ . En los PR se asociaban el D6S273\_4 con BAT2\_2 (17 de los 37 frente a 4 de los 35 PNR;  $OR = 6,39$  y  $p = 0,001$ ). Con respecto al grupo control sólo se asociaban a PR ( $OR = 4,27$  y  $p = 0,00002$ ), y por tanto con la respuesta favorable a la terapia. Parece que existe un haplotipo más extenso en PR formado por D6S273\_3, BAT2\_2 y TNF-a11b4c1d3e3 ( $OR = 10,93$ ;  $p = 0,009$ ). Incluso parece asociarse a la presencia de DRB1\*0404.

### Conclusiones

No existen diferencias en la distribución de alelos del epítipo compartido, en los polimorfismos del promotor de TNF- $\alpha$  o de los microsatélites MICA y D6S2223.

El D6S273\_3 es el único incrementado en PNR y está asociado con BAT\_2 en población control.

Los alelos BAT2\_2 y D6S273\_4 están incrementados exclusivamente en PR, forman haplotipo con TNF-a11b4c1d3e3 y, por lo tanto, se asocian con una respuesta favorable al tratamiento con infliximab.

Existen marcadores en el MHC que pueden predecir la respuesta clínica al tratamiento con infliximab a corto plazo en pacientes con AR refractaria a otros FAME.

### Fractura de Colles y osteoporosis generalizada. Estudio de la asociación en mujeres posmenopáusicas

E. Kanterewicz-Binstock

*Universidad:* Universidad Autónoma de Barcelona.

*Fecha:* noviembre de 2004.

*Director:* Dr. Adolfo Díez Pérez.

*Realizada en:* Hospital General de Vic. Barcelona. España.

### Introducción

La fractura de Colles (FC) se considera el primer episodio en la historia natural de la osteoporosis posmenopáusica. Sin embargo, de la revisión de la bibliografía médica se desprende que varios aspectos sobre esta fractura y su relación con la osteoporosis sistémica no habían sido abordados en nuestro medio.

### Objetivo general

Profundizar en las relaciones clínicas y epidemiológicas que existen entre la FC y la osteoporosis generalizada en mujeres mayores de 45 años, la gran mayoría posmenopáusicas.

Objetivos concretos

1. Analizar la asociación entre la FC y la osteoporosis generalizada mediante el estudio de la densidad mineral ósea (DMO) en la muñeca, columna lumbar y cadera en una serie consecutiva de mujeres con FC y en un grupo control.

2. Valorar si existían diferencias según la edad de las participantes.

3. Estimar la prevalencia de fracturas vertebrales mediante el uso de la morfometría vertebral con tecnología DEXA (MXA) en las mujeres con FC.

### Métodos

Estudio de casos incidentes y controles de 18 meses de duración realizado en el Hospital General de Vic (Barcelona). Los casos se recogieron después de acudir al servicio de urgencias y los controles poblacionales fueron invitadas a participar por sus médicos de cabecera. Se practicó una densitometría ósea y una morfometría vertebral a todos los participantes y se registró la información relevante demográfica y clínica.

### Resultados

Participaron 58 casos y 83 controles. La edad media de los casos era de 65 años y de los controles 58 años ( $p < 0,05$ ). Tras ajustar por la edad, la situación menopáusica, y el índice de masa corporal, los casos mostraron una menor masa ósea que los controles en todas las localizaciones estudiadas ( $p < 0,025$ ). La frecuencia global de osteoporosis según criterios de la OMS fue del 60% en los casos y 30% en los controles ( $p < 0,025$ ). Estas diferencias eran más marcadas en las pacientes menores de 65 años. En este subgrupo, la FC se asoció significativamente a la osteoporosis lumbar (*odds ratio* [OR] = 3,9; intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,1-14,3) y mostró una tendencia en la zona femoral ( $OR = 2,6$ ; IC del 95%, 0,7-9,0). Mediante MXA la prevalencia de deformidades vertebrales fue del 19% en los casos frente a un 11% en los controles (NS), y se observó una mayor frecuencia de fracturas también en las pacientes menores de 65 años (el 18 frente al 5%,  $p = 0,06$ ).

Conclusión: La FC se muestra como un evento relacionado con la osteoporosis generalizada y de forma más específica con las mujeres más jóvenes dentro de la categoría de la osteoporosis posmenopáusica. Las mujeres posmenopáusicas jóvenes con una reciente FC deben ser consideradas como una población de riesgo de osteoporosis.

### **Valoración del estado oxidativo en pacientes con artritis reumatoide: correlación clínico-bioquímica**

F. de Paula y G. Jiménez-Núñez

*Universidad:* Universidad de Málaga.

*Fecha:* 25 de octubre de 2004.

*Directores:* Dr. González Correa, Dr. De la Cruz Cortés y Dr. Sánchez de la Cuesta y Alarcón.

*Realizada en:* Facultad de Medicina. Universidad de Málaga. Málaga. España.

#### **Objetivos principales**

*a)* evaluar el estado oxidativo periférico en pacientes con artritis reumatoide (AR); *b)* correlacionar los resultados obtenidos con el grado de actividad inflamatoria de la AR; *c)* valorar si las comorbilidades etiopatogénicamente relacionadas con los radicales libres de oxígeno (RLO) determinan una mayor actividad de la AR.

#### **Material y método**

Estudio observacional, descriptivo y transversal de 68 pacientes con AR, empleándose como grupo control 30 voluntarios sanos. Se determinaron las concentraciones eritrocíticas de glutatión (total, reducido y oxidado) mediante espectrofluorimetría, las actividades enzimáticas relacionadas (glutatión peroxidasa, reductasa y transferasa) mediante cinética espectrofotométrica, la concentración plasmática de malondialdehído (MDA) mediante espectrofotometría, y la actividad superóxido dismutasa (SOD) plasmática, citoplasmática y mitocondrial mediante ELISA.

#### **Resultados**

Los valores de MDA plasmático resultaron superiores en AR ( $2,32 \pm 0,11 \mu\text{mmol/mg}$  proteína) con respecto a los del grupo control ( $1,58 \pm 0,05 \mu\text{mol/mg}$  proteína). Se encontró un déficit relativo de actividad glutatión peroxidasa y reductasa en AR ( $16,72 \pm 0,92$  y  $10,19 \pm 0,93 \mu\text{mol/min}$ ) con respecto a los sanos ( $22,52 \pm 1,6$  y  $20,18 \pm 2,21 \mu\text{mol/min}$ ). También resultaron estadísticamente significativas una mayor actividad SOD mitocondrial y una menor actividad SOD plasmática en los pacientes con AR ( $1,35 \pm 0,07$  y  $1,5 \pm 0,11 \text{ U/ml}$ ) respecto de los individuos del grupo control ( $0,93 \pm 0,08$  y  $2,11 \pm 0,21 \text{ U/ml}$ ).

Fueron estadísticamente significativas una correlación positiva entre los valores de MDA plasmático y DAS28 ( $r = 0,34$ ), así como negativas entre los valores de glutatión eritrocítico (total y reducido) y actividad glutatión peroxidasa con DAS28 ( $-0,27$  y  $-0,36$ , respectivamente).

En el análisis multivariante se aprecia el efecto protector de la actividad glutatión peroxidasa en rela-

ción con el desarrollo de erosiones (factor de exposición 0,871). Para la variable actividad (DAS28), se observó el efecto negativo del MDA plasmático (factor exposición 1,9). Ninguna de las comorbilidades relacionadas con los RLO se incluyó en el modelo de regresión logística.

#### **Conclusiones**

Los enfermos con AR presentan un desequilibrio del estado oxidativo periférico, caracterizado por un incremento de la peroxidación lipídica (definida por una mayor concentración de MDA plasmático respecto del grupo control) y una disminución de la capacidad defensiva antioxidante (determinado por una depleción de glutatión reducido eritrocitario y de las actividades glutatión peroxidasa y reductasa, así como una mayor actividad SOD mitocondrial y menor actividad SOD plasmática respecto de los controles sanos). El estrés oxidativo, valorado como un incremento de la peroxidación lipídica, se relaciona con una mayor actividad de la AR. La depleción de glutatión y la reducción de las actividades enzimáticas relacionadas, principalmente glutatión peroxidasa, condicionan una peor evolución de la enfermedad. A menor capacidad antioxidante mayor agresividad de la enfermedad.

### **Estudio de la asociación de la región 8q13 y la artritis reumatoide en familias simples españolas**

J.J. de Agustín de Oro

*Universidad:* Universidad Autónoma de Barcelona.

*Fecha:* 29 de noviembre de 2004.

*Directora:* Dra. Sara Marsal Barril.

*Realizada en:* Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

#### **Objetivos**

Analizar la presencia de desequilibrio de ligamiento entre los microsatélites CRH-RA1 y CRH-RA2 en la población española.

Analizar la asociación entre los alelos y los haplotipos de los microsatélites CRH-RA1 y CRH-RA2 y la artritis reumatoide en familias simples de enfermos de la población española.

Definir la presencia de asociación entre la región 8q13 y la artritis reumatoide en la población española.

#### **Material y métodos**

Se realizó la extracción del ADN de las muestras sanguíneas procedentes de los miembros de 121 familias simples de enfermos con AR y de 101 individuos sanos, todos ellos pertenecientes a la población española. Se analizó conjuntamente 2

marcadores microsatélites, CRHRA1 y CRHRA2, localizados a 25 y 20 kb, respectivamente, del extremo 5' del *locus* de la CRH, en un nuevo diseño múltiple de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se estudió la presencia de desequilibrio de ligamiento (LD) entre los 2 marcadores en la muestra de individuos de la población española. Para el cálculo de las frecuencias alélicas y haplotípicas de los microsatélites se utilizó el software ARLEQUIN. Para el estudio de asociación se utilizó el *transmission disequilibrium test* (TDT) mediante el software TRANSMIT.

### Resultados

Los marcadores CRH-RA1 y CRH-RA2 están en desequilibrio de ligamiento en la población española. No se observó asociación estadísticamente significativa de ninguno de los alelos de estos microsatélites con la AR. El haplotipo asociado con la AR en la población inglesa (CRHRA1\*10-CRHRA2\*14) se transmitió con menor frecuencia (12 observados frente a 17,43 esperado), aunque las diferencias no fueron significativas ( $p > 0,05$ ). Para ninguno de los restantes haplotipos presentes en las familias de enfermos con AR se observó transmisión estadísticamente significativa.

### Conclusiones

Los microsatélites CRH-RA1 y CRH-RA2 se encuentran en desequilibrio de ligamiento en la población española.

No existe asociación entre ninguno de los alelos ni los haplotipos de los microsatélites CRH-RA1 y CRH-RA2 y la AR en familias de enfermos de la población española.

No hay asociación entre la región cromosómica 8q13 y la AR en la población española.

Este es el primer estudio que intenta corroborar la asociación entre la región 8q13 que contiene el *locus* de la CRH y la AR. Los resultados obtenidos no están en concordancia con los hallados en la población inglesa y sugieren que esta región genómica no está implicada en la susceptibilidad genética de la AR en la población española.

### Farmacogenética de las enzimas metabólicas: el ejemplo de la tiopurina S-metiltransferasa (TPMT) y el metabolismo de azatioprina en las enfermedades inflamatorias crónicas

H. Corominas i Macias

*Universidad:* Universitat Autònoma de Barcelona.

*Fecha:* 14 de julio de 2004.

*Director:* Dra. Montserrat Baiget y Prof. Dr. Guillermo Vázquez.

*Realizada en:* Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España.

### Objetivo

1) Analizar los polimorfismos de tiopurina S-metiltransferasa (TPMT); 2) describir las mutaciones de TPMT en artritis reumatoide (AR) y la enfermedad inflamatoria intestinal (EII); 3) estudiar el gen de TPMT en diferente origen étnico; 4) reportar individuos portadores heterocigotos con baja actividad enzimática (TPMT<sup>HL</sup>); 5) demostrar si el polimorfismo genético del TPMT justifica la retirada de azatioprina.

### Material y métodos

111 AR, 146 colitis ulcerosas y muestras de ADN de 3 grupos de diferente origen étnico: 138 individuos españoles, 51 vascos y 95 gitanos. El grupo control: ADN de 105 individuos sanos y muestras de ADN de 213 individuos sanos; 105 de Barcelona y 108 de Amsterdam.

### Resultados

Resultados publicados en 6 revistas nacionales e internacionales indexadas.

### Conclusiones

El estudio genotípico de TPMT identifica enfermos con: alto riesgo de desarrollar una toxicidad severa (TPMT<sup>LL</sup>); variantes alélicas asociadas con actividad intermedia (TPMT<sup>HL</sup>); un genotipo normal (TPMT<sup>HH</sup>); en este grupo, se pueden prescribir dosis más altas, sin riesgo aparente de toxicidad para conseguir una mejor respuesta terapéutica.