



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”

**“USO DE VARIOS miRNA COMO POTENCIALES MARCADORES
SÉRICOS DE HIPERTENSIÓN PULMONAR ASOCIADA A
ESCLEROSIS SISTÉMICA”**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

REUMATOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. ERIKA MARROQUÍN FABIAN

ASESOR DE TESIS:

LUIS MANUEL AMEZCUA GUERRA

México, D.F. Julio del 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. José Fernando Guadalajara Boo
Director de Enseñanza
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”

Dr. Manuel Martínez-Lavín
Profesor Titular del Curso de Especialización en
Reumatología
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”

Dr. Luis Manuel Amezcua Guerra
Investigador en Ciencias Médicas Titular “D”
Departamento de Inmunología
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”

ÍNDICE

1. Introducción	5
2. Esclerosis sistémica	
2.1 Epidemiología	5
2.2 Patogénesis	6
2.3 Características clínicas	9
2.4 Criterios de clasificación	13
2.5 Anticuerpos en esclerosis sistémica	14
2.6 Índices de actividad y gravedad	15
3. Hipertensión pulmonar	
3.1 Definición	18
3.2 Epidemiología	18
3.3 Clasificación	19
3.4 Fisiopatología	20
3.5 Diagnóstico	20
4. Hipertensión pulmonar asociada a esclerosis sistémica	
4.1 Epidemiología	24
4.2 Factores de riesgo	25
4.3 Patogénesis	25
4.4 Autoinmunidad	26
4.5 Genética	27
4.6 Características clínicas	27
4.7 Detección temprana	28

4.8 Tratamiento	29
5. Biomarcadores	30
5.1 miRNA	30
5.2 TGF- β	33
5.3 Ácido úrico	33
5.4 Vitamina D	34
6. Justificación	36
7. Objetivo	37
8. Hipótesis	38
9. Material y método	39
10. Análisis estadístico	42
11. Resultados	43
12. Discusión	50
13. Conclusiones	53
14. Referencias	54

1. Introducción

La hipertensión arterial pulmonar es una complicación bien reconocida de esclerosis sistémica (ES) con una prevalencia entre 7.8% y 13%. La hipertensión arterial pulmonar asociada a ES es una de las principales causas de hipertensión pulmonar en todos los registros.¹

2. Esclerosis sistémica (ES)

Es un desorden autoinmune, multisistémico, crónico, caracterizado por inflamación, fibrosis y vasculopatía.² Afecta principalmente a mujeres, está asociado con significativa morbilidad, incluyendo dolor, discapacidad, depresión y reducción de la calidad de vida; incrementa mortalidad comparada con individuos del mismo sexo y edad, la supervivencia relativa es tan baja como 35% a 20 años.³

2.1 Epidemiología

La incidencia y prevalencia varía entre diferentes poblaciones, sugiriéndose una predisposición genética y/o exposición a desencadenantes ambientales.

La prevalencia real de ES ha sido infraestimada por que la enfermedad leve usualmente no es diagnosticada. Países como Estados Unidos muestran una prevalencia de 276 casos por millón de adultos, más que en Europa con una prevalencia de 80-150 casos por millón de adulto (ver figura 1). La incidencia anual de nuevos casos ha sido reportada de 1 a 20 casos por millón.⁴

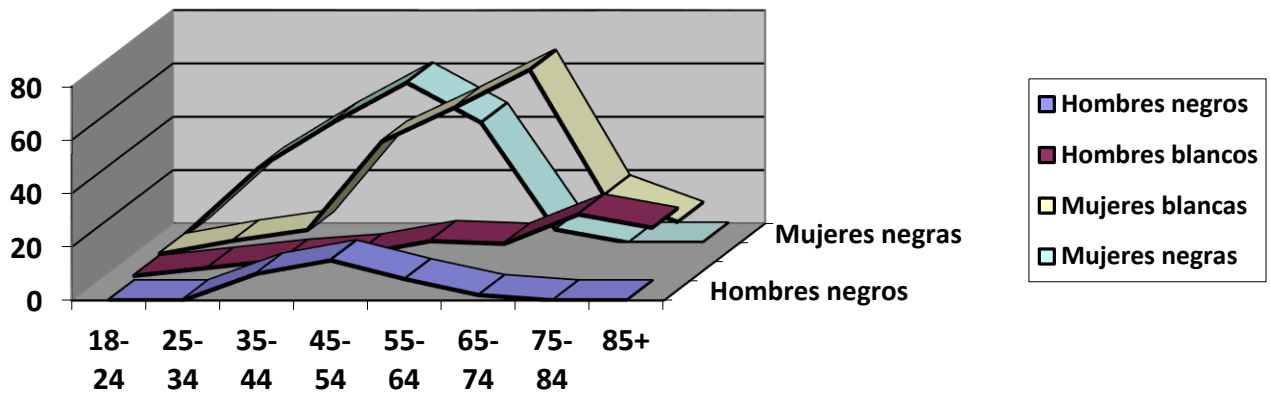


Figura 1: Incidencia (millón/año) de acuerdo a la edad de esclerosis sistémica por sexo y raza, en población de Estados Unidos.⁵

La ES es 3 veces más común en mujeres que en hombres. Series nuevas reportan una prevalencia de 1 en 10,000 y tasa de incidencia de 1 en 100,000.⁴

Factores ambientales han sido propuestos como posibles desencadenantes, el más frecuentemente descrito es el polvo de sílice, algunas otros son el cloruro de vinilo usado en la manufactura de plásticos, resinas y solventes. La presencia de microquimerismos, agentes infecciosos como el citomegalovirus, la inherente propensión a estrés oxidante con generación de radicales libres son también candidatos a contribuir en la progresión de la enfermedad.⁶

Los factores genéticos están apoyados por la alta frecuencia de desórdenes autoinmunes y anticuerpos positivos en familiares de ES. Diversas cohortes han mostrado resultados convincentes donde se identifica los siguientes genes: HLA, IRF5 y STAT4. La presencia de múltiples polimorfismos contribuye al riesgo de la enfermedad.⁷

Los cambios epigenéticos son definidos como un cambio hereditario en la expresión genética, que no envuelve cambios en la secuencia de DNA, principalmente alteración en la metilación del DNA de las células T.⁸

2.2 Patogénesis

La patogénesis ES es muy compleja, sin una teoría unificadora que pueda explicar todos los aspectos. Hay 3 mecanismos responsables de las manifestaciones: daño vascular, inflamación/activación del sistema inmune y fibrosis.⁵

a) Daño vascular

La disfunción vascular es una de las alteraciones más tempranas en la ES. La lesión endotelial, involucra principalmente a la microcirculación y es mediada por citocinas producidas por linfocitos activados y anticuerpos contra células endoteliales (ACCE). Los linfocitos activados secretan citocinas y quimiocinas que dirigen la lesión de las células endoteliales y expresión del complejo principal de histocompatibilidad (CMH) y la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), favoreciendo el reclutamiento de células inflamatorias.⁹

Factores de crecimiento como el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) son producidos, incrementando la producción de matriz extracelular y sobre-regulación del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). El incremento de PDGF promueve la proliferación de células endoteliales e infra-regulación del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el cual usualmente promueve la neovascularización.¹⁰

El daño vascular consiste en pérdida de la regulación del tono vasomotor con disminución de los vasodilatadores como el óxido nítrico, y aumento de vasoconstrictores como la endotelina 1; quimioatracción y adhesión de células inflamatorias; exposición del subendotelio a la adhesión plaquetaria y depósito de fibrina con formación de trombos intravasculares. Estos cambios llevan al daño vascular, proliferación de la íntima, estrechamiento del lumen vascular con disminución del flujo vascular.¹¹

La disminución de las células progenitoras endoteliales se asocia con gravedad de la enfermedad y con la presencia de úlceras digitales. Una etapa tardía de la enfermedad se caracteriza por pérdida de vasos sanguíneos, junto a una frustrada angiogénesis.¹¹

El estrés oxidante también se ha sugerido como parte de la patogénesis, la lesión por isquemia y reperfusión secundario al fenómeno de Raynaud, puede generar especies reactivas de oxígeno que resultan en daño endotelial. El 8-isoprostano, fidedigno marcador de estrés oxidante, se encuentra incrementado en orina, lavado broncoalveolar y séricos de pacientes con ES. Niveles incrementados de la proteína de choque térmico 70 (HSP), es un biomarcador de estrés celular observado en ES y correlaciona con la gravedad de la enfermedad.⁵

b) Inflamación/ activación inmune

La fuerte asociación de IRF5 con ES, es una fuerte clave de la afección del sistema inmune innato, así como los múltiples estudios referidos sobre el receptor tipo Toll 3. La afección de la inmunidad humoral se demuestra por los numerosos anticuerpos descritos en ES. El sistema inmune celular y la consecuente inflamación crónica tienen un rol importante, infiltrados de células mononucleares son encontrados en piel afectada y vísceras.¹²

Recientemente células T reguladoras (CD4+ CD25+) han sido investigadas, están permitiendo suprimir la proliferación de células T efectoras y juega un rol crucial en la determinación de la autotolerancia. En la ES están marcadamente incrementadas pero muestran una aberrante expresión de marcadores fenotípicos que es asociada con función supresora reducida.¹²

El rol de las células T en el desarrollo de fibrosis dérmica ha sido sugerido al observarse que la invalidación del STAT4 en un modelo de ratón induce fibrosis dérmica, STAT4 es un factor de transcripción que promueve la inflamación, regula la activación de fibroblastos orquestando la infiltración.¹³

La IL17, citocina proinflamatoria, causa incremento en células Th17 en ES con disminución en la supresión de células T reguladoras.¹⁴

La hiperreactividad de células B e hipergamaglobulinemia sugiere la presencia de una activación anormal de células B, y la presencia de infiltración ha sido detectada en la piel y pulmones de pacientes con ES; en particular CD22.¹⁵

c) Fibrosis

La fibrosis es el paso final en la patogénesis de ES y responsable de las características clínicas más destacadas de la enfermedad, debido a un incremento en la producción de colágena, especialmente tipo 1 y 3.

El TGF- β , producido por activación de linfocitos y monocitos, está sobrerregulado en pacientes con ES. También es disminuida la producción de metaloproteinasas que degradan la colágena.¹⁶

El CTGF es otro mediador importante de fibrosis, estimula la síntesis de matrix extracelular; es producida por fibroblastos, células del músculo liso vascular y células endoteliales en respuesta a TGF- β .¹⁶

2.3 Características clínicas

Tabla 1. Frecuencia de afección de órganos y sistemas

Órgano/sistema	Afección	Frecuencia (%)
Cutánea	Esclerodermia	100
Vascular	Fenómeno de Raynaud	70-91
Osteomuscular	Artralgia o artritis	26-60
	Contractura articular	51-90
	Frotes tendinosos	5-62
Pulmonar	Neumopatía intersticial	44-54
	HP	15%
Renal	Insuficiencia renal	50
	HAS	
	Crisis renal	3-16
Gastrointestinal	Motilidad esofágica	67
	Malabsorción	
Cardiaca	Pericardio y válvulas cardiacas	12
	Trastornos conducción	50
	Miocardio	

a) Vascular

El fenómeno de Raynaud (FR) está presente en más del 95% de los pacientes con ES, aquellos sin FR tienen peor pronóstico. El FR es inducido por frío y menos común por estrés. Predomina en dedos, orejas, nariz y rara vez en lengua.¹⁷

El FR es descrito como un cambio de color trifásico, palidez en respuesta al vasoespasmo, coloración violácea por isquemia y desaturación de hemoglobina, e hiperemia reactiva cuando la sangre recircula. Suelen experimentar entumecimiento, hormigueo y malestar durante el evento.^{12,17}

En ES limitada, el FR comienza varios años antes que el involucro de piel u otra manifestación visceral. En ES difusa ocurre simultáneamente o levemente después del inicio de los cambios en la piel. Las principales complicaciones son el “pitting” digital, úlceras digitales, gangrena y amputación.^{12,17}

Los pacientes pueden presentar anomalías en la capilaroscopia en forma temprana como dilatación de capilares y microhemorragias, en fases más activas se observan megacapilares con zonas avasculares y finalmente neovascularización.¹⁸

b) Cutáneo

Se diferencian 3 etapas del involucro cutáneo:

- **Inflamatoria o edematosa:** Manos y dedos aparecen aumentados de volumen (edema), pérdida de los pliegues de la piel, resequedad por disminución en la sudoración y agrietamiento.¹²
- **Fibrosis:** endurecimiento de la piel de forma distal a proximal en extremidades y afección en cara, lo que causa disminución de la apertura bucal y apariencia de facies de “pajarito”, presentan dientes frontales prominentes por retracción gingival y atrofia de la mandíbula. La piel con despigmentación en sal y pimienta.¹²

- **Atrófica:** típicamente comienza 2 años después del inicio del involucro de la piel, el reblandecimiento da la misma aparenta una regresión a lo normal, sobre todo en la variedad difusa. En etapas avanzadas la piel se vuelve atrófica y se siente muy delgada.¹²

Otras manifestaciones cutáneas son la presencia de telangiectasias y calcinosis.

Índice de Rodnan

Es un método para graduar el endurecimiento de la piel, evalúa 17 áreas anatómicas (ver figura 2).

El grado de induración cutánea se puntúa como:

- 0 = normal
- 1 = induración leve
- 2 = induración moderada
- 3 = induración intensa

Rango de 0-51: leve de 0 a 17, moderado de 18 a 34 e intenso de 35 a 51.^{5,12}

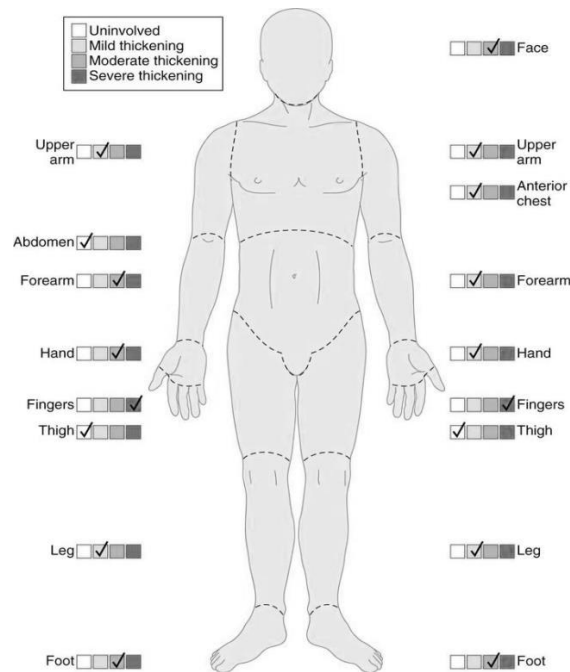


Figura 2. Índice modificado de Rodnan

c) Gastrointestinal

Se puede afectar el sistema gastrointestinal por completo, siendo la principal manifestación alteraciones en la motilidad. La etiología incluye atrofia del músculo liso, insuficiencia microvascular y factores neurogénicos.

Tabla 2. Manifestaciones gastrointestinales¹⁹

Orofaringe	. Xerostomía es frecuente. Incremento en el riesgo de desarrollar carcinoma de lengua
Esófago	Dismotilidad esofágica en los dos tercios distales, reducción de la presión del esfínter esofágico inferior causando disfagia, reflujo gastroesofágico y dispepsia.
Estomago	Saciedad temprana, distensión, náusea, vómito, anorexia y pérdida de peso. Sangrado gastrointestinal, telangiectasias, ectasia vascular antral gástrica (“watermelon stomach”).
Intestino delgado y grueso	Dismotilidad intestinal, diarrea alternando con estreñimiento. Sobrecrecimiento bacteriano. Pseudo- obstrucción intestinal. Divertículos de boca ancha en la superficie anti-mesentérica. Prolapso rectal.

d) Pulmonar

La enfermedad pulmonar intersticial (EPI) comienza como fibrosis basilar, en pacientes con ES limitada o difusa, sin embargo siendo en esta última más común y grave. Aproximadamente 80% de los pacientes tiene EPI en la TAC de alta resolución o en la examinación postmortem.²⁰

Se asocia a la presencia de anticuerpo anti- topoisomerasa tipo I. El riesgo es principalmente durante los primeros 4 años, en hombres afro-americanos en la quinta y sexta década de la vida. Anticuerpo anti- polimerasa III asociado a reducción del riesgo de desarrollar EPI.²⁰

El más sensible y temprano cambio es la reducción de la capacidad de difusión, por lo que las pruebas de función pulmonar con espirometría y DLCO son el mejor método de estudio de la EPI. Es

caracterizada por reducción de la capacidad pulmonar total y de la capacidad vital forzada, indicativa de enfermedad pulmonar restrictiva.²⁰

e) Cardíaco

Las manifestaciones cardíacas descritas son pericarditis, cardiomiopatía dilatada, neuropatía autonómica, arritmias, disfunción diastólica y lesión endotelial.¹²

La presencia de derrame pericárdico es un factor de riesgo para el desarrollo de crisis renales. Su incidencia está incrementada en pacientes con HP.¹²

La presencia de insuficiencia cardíaca congestiva se ha asociado con incremento en la mortalidad en pacientes con ES.¹²

Los defectos de conducción más frecuentes son la prolongación del intervalo PR, hemibloqueo fascicular anterior izquierdo, retraso en la conducción intraventricular, contracciones atriales prematuras, taquicardia atrial multifocal o taquicardia supraventricular.¹²

f) Renal

Crisis renal es una de las manifestaciones vasculares cardinales en la ES, no es caracterizada por un proceso inflamatorio, hay un estado de renina alto y los cambios patológicos de los vasos renales son similares a los vistos en otros vasos sanguíneos de los pacientes con ES.²¹

Aproximadamente 10% de los pacientes desarrollan una crisis renal. Los factores de riesgo descritos son la variedad difusa, frotos tendinosos, anti-RNA polimerasa III, anemia de reciente inicio y derrame pericárdico.²¹

Presentan usualmente una marcada elevación de la tensión arterial, cefalea, alteraciones visuales, crisis convulsivas, edema pulmonar y de extremidades inferiores. Hay una variante normotensiva caracterizada por anomalías de laboratorio en la presencia de presión arterial normal, la cual puede progresar a insuficiencia renal.²¹

g) Musculo- esquelético

Los principales síntomas son artralgias y mialgias, principalmente articulaciones interfalángicas, metacarpofalángicas (MCF), muñecas y tobillos. Los cambios progresivos de la piel pueden resultar en contracturas en flexión.

Los frotos tendinosos se consideran predictores de progresión a la variedad difusa, presente en un tercio de los pacientes.¹²

2.4 Criterios de clasificación

Diferentes clasificaciones han sido propuestas en la ES, la mayoría basadas en el grado de afección cutánea.

Clasificación ACR (1980) se ha aplicado por muchos años.²²

Criterio mayor:

- Esclerodermia proximal
- Engrosamiento simétrica de la piel dedos y proximal a MCF

Criterios menores:

- Esclerodactilia
- Cicatrices puntiformes digitales o pérdida de sustancia en los dedos
- Fibrosis pulmonar basal bilateral

Limitada por su falta sensibilidad para los casos leves y tempranos

Tabla 3. Los nuevos criterios ACR/EULAR (2013)²²

Criterio	Subcriterio	Puntaje
Engrosamiento cutáneo de los dedos de ambas manos que se extiende proximal a las artic MCF		9

Engrosamiento cutáneo de los dedos	Dedos en salchicha	2
	Esclerodactilia	4
Lesiones en el pulpejo	Úlceras digitales	2
	Pitting o lesiones en mordedura de rata	3
Telangiectasia		2
Capilaroscopia patológica		2
HAP y/o Enfermedad pulmonar intersticial	HTTP	2
	EPI	2
Fenómeno Raynaud		3
Autoanticuerpos relacionados SS	Anticentromero, anti topoisomerasa I, anti RNA polimerasa III	3

Un puntaje mayor o igual a 9 se considera diagnóstico de ES.

2.5 Anticuerpos

Tabla 4. Anticuerpos asociados a esclerosis sistémica²³

Anticuerpo	Variedad clínica	Afectación orgánica
Topoisomerasa I	Difusa	Fibrosis pulmonar/ cardíaca
Centrómero	Limitada	HP/úlceras digitales
RNA polimerasa III	Difusa	Crisis renal/esclerosis cutánea/HP
Th/To	Limitada	Fibrosis pulmonar+HP
Pm- Scl	Superposición	HP Miositis/fibrosis
U3 RNP	Difusa	Miositis/HP
U1-RNP	Limitada/EMTC	Miositis/HP
Ku		Miositis/afectación digestiva

2.6 Índices de actividad en esclerosis sistémica

La actividad de la enfermedad suele medir el aspecto que varía con el tiempo y es potencialmente reversible, ya sea espontáneamente o bajo tratamiento farmacológico. El daño mide la lesión irreversible de los tejidos que resulta de la enfermedad. La gravedad de la enfermedad carece de una definición aceptada, algunos la equiparan a una medida de pronóstico. Otros la toman para representar el efecto total de la enfermedad en función del órgano en un punto dado en el tiempo, tanto reversible (actividad) e irreversible (daño).²⁴

Las medidas de actividad de la enfermedad en ES han sido particularmente difíciles, esto se basa en diferentes hechos: ²⁵

1. Algunos pacientes, especialmente los que tienen afectación cutánea tipo limitada, tienen un curso indolente y sin claros signos de inflamación.
2. Desde el punto de vista de laboratorio, sólo unas pocas proteínas de fase aguda son elevadas en pacientes con ES temprana.
3. Las características clínicas de ES son atribuibles a cambios vasculares y fibrosis del tejido conectivo, los cuales son más difíciles de apreciar y cuantificar que la inflamación, y cuando esta llega a ser medible, usualmente ha progresado a daño irreversible.

Por dicha razón, autores como Clements, et al. han sugerido que la actividad real en la ES debe ser anormal cuando la enfermedad está empeorando y luego normaliza a medida que la enfermedad se detiene.²⁶

a. Índice de actividad de la enfermedad por Valentini

En 2001, el Grupo de Estudio Europeo de Esclerodermia (ESSG) desarrolló índices preliminares de actividad de la enfermedad para ser utilizados en pacientes con ES. Investigadores de 19 centros europeos en 11 países completaron una extensa información de 88 ítems, para 290 pacientes consecutivos con ES variedad difusa o limitada. Cuatro clínicos expertos calificaron cada ítem de menos a más activo. Se obtuvo el índice de Valentini, el cual fue adoptado en el 2002, consistente en

10 variables con diferentes calificaciones de 0.5 a 2.0, las cuales resultan en un total de 0 a 10 puntos (Ver tabla 5).²⁷

Ciertos elementos que se incluyen les falta validez. Por ejemplo, hipocomplementemia se mantiene como un elemento de actividad de la enfermedad, pero esto no se cree comúnmente importante en ES. Tres ítems se relacionan a cambios en piel, síntomas vasculares y cardiopulmonares en el último mes, los cuales fallan en percibir persistencia de actividad.²⁸

Tabla 5. Índice de actividad de la enfermedad de Valentini

Variable	Puntaje
Índice de Rodnan >14	1.0
Escleroderma	0.5
Cambios en la piel en el último mes	2.0
Necrosis digital	0.5
Cambios vasculares en el último mes	0.5
Artritis	0.5
Capacidad difusión pulmonar <80% predicho	0.5
Cambios en síntomas cardiopulmonares en el último mes	2.0
Velocidad sedimentación globular >30 mm/1st hora	1.5
Hipocomplementemia	1.0
Total	10

b) Escala de gravedad de la enfermedad por Medsger

Involucra 9 sistemas, los cuales son denominados: estado de salud general, vascular periférico, piel, articulación/tendón, músculo, gastrointestinal, pulmón, corazón y riñón. Cada sistema es calificado de 0 a 4 dependiendo de una afección leve, moderada, grave o estado terminal (ver tabla 6).²⁸

Esta escala de gravedad tiene limitaciones como medida de actividad de la enfermedad, ya que resulta en 9 puntajes separados, uno por cada órgano o sistema sin obtener un total. Se considera que no es fácil de usar.²⁸

Tabla 6. Escala de gravedad de Medsger

Órgano/Sistema	0 (normal)	1 (leve)	2(moderado)	3(grave)	4(terminal)
General	Pérdida peso<5%; Hto37%+; Hb12.3+	Pérdida peso5-10%; Hto33-37%; Hb11-12.2	Pérdida peso10-15%; Hto29-33%; Hb9.7-10.9	Pérdida peso15-20%; Hto25-29%; Hb8.3-9.6	Pérdida peso20%+; Hto25%+; Hb<8.3
Vascular periférico	No Raynaud o no requiere vasodilatadores	Raynaud usa vasodilatador	Pitting digital	Ulceraciones digitales	Gangrena digital
Piel	Rodnan 0	1-14	15-29	30-39	40+
Articulación/Teñdón	FTP 0-0.9cm	FTP 1-1.9cm	FTP 3-3.9cm	FTP 4-4.9cm	FTP +5cm
Músculo	Normal	Debilidad leve proximal	Debilidad moderada proximal	Debilidad grave proximal	Requiere ayuda
Gastrointestinal	Normal	Hipoperistalsis esófago distal; serie intestinal anormal	Antibióticos por sobrecrecimiento o bacteriano	Síndrome malabsorción; episodios pseudo obstrucción	Requiere hiperalimentación
Pulmón	DLCO 80+%;CVF 80+%;no fibrosis;sPAP <35mmHg	DLCO o CVF 70-79%;estertores basales;fibrosis, sPAP 35-49 mmHg; defectos ECG;LVEF 45-49%	DLCO o CVF 50-69%; sPAP 50-64	DLCO o CVF <50%; sPAP 65+	Requiere oxígeno
Corazón	ECG normal; LVEF 50+%	ECG alteraciones; LVEF 45-49%	Arritmia; LEVF 40-44%	Terapia arritmia; LVEF 30-40%	ICC; LVEF <30%
Riñón	No historia crisis renal, Cr <1.3	Historia crisis renal con Cr<1.5	Historia crisis renal, Cr 1.5-2.4 mg/dL	Crisis renal Cr 2.5-5 mg/dL	Crisis renal, Cr >5 mg/dL o diálisis

3. Hipertensión pulmonar (HP)

3.1 Definición

Hipertensión pulmonar (HP) es una enfermedad estrictamente definida como una presión de la arteria pulmonar media (mPAP) de 25 mmHg o mayor, una presión en cuña de la arteria pulmonar de 15 mmHg o menos, y una resistencia vascular pulmonar de 3 o más unidades Wood, medidas por cateterismo derecho.¹

3.2 Epidemiología

Datos epidemiológicos comparativos sobre la prevalencia de los diferentes grupos de HP no están disponibles. En un sondeo llevado a cabo en un laboratorio de endocardiografía, la prevalencia de la HP (definida por una PAP sistólica > 40 mmHg) entre 4579 pacientes fue del 10.5%. De los 483 casos con HP, el 78.7% padecía cardiopatía izquierda (grupo 2), el 9.7% sufría de enfermedades pulmonares e hipoxemia (grupo 3), el 4.2% tenía HAP (grupo 1) y el 0.6%, HP tromboembólica crónica (grupo 4) y fue imposible definir el diagnóstico del 6.8% restante.²⁹

Recientes registros han descrito la epidemiología de la HAP. La estimación más baja de la prevalencia de la HAP y la HAPI es de 15 casos y 5.9 casos por millón de población adulta, respectivamente. La estimación más baja de la incidencia de la HAP es de 2.4 casos por millón de población adulta al año. Datos recientes provenientes de Escocia y de otros países han confirmado que la incidencia de la HAP se sitúa dentro de los 15-50 casos por millón de habitantes en Europa. En el registro francés, el 39.2% de los pacientes tenía HAPI y el 3.9% tenía antecedentes familiares de HAP.²⁹

Antes del desarrollo de terapias para HP, el pronóstico era pobre con un año de supervivencia de 69% y a 5 años de supervivencia de 38%.³⁰

3.3 Clasificación

El segundo simposio mundial de HP en 1998 clasificaba la HP en 5 clases: 1) hipertensión arterial pulmonar (HAP), 2) HP secundaria a enfermedad cardiaca izquierda, 3) HP propia de la enfermedad pulmonar crónica y/o hipoxia, 4) HP tromboembolica crónica y 5) HP propia de mecanismos multifactoriales poco claros.¹

La actualización de la clasificación refleja la fisiopatología de los diferentes tipos de HP (Ver tabla 7).³¹

Tabla 7. Clasificación de la OMS de hipertensión pulmonar

<p>1. Hipertensión arterial pulmonar</p> <p>1.1 HAP idiopática</p> <p>1.2 HAP hereditaria (BMP2, ALK-1, ENG, SMAD9, CAV1, KCNK3)</p> <p>1.3 Inducida por toxinas y drogas</p> <p>1.4 Asociada con enfermedad del tejido conectivo, VIH, hipertensión portal, enfermedad cardiaca congénita, esquistosomiasis</p> <p>1' Enfermedad venooclusiva pulmonar y/o hemangiomas capilar pulmonar</p> <p>1'' HP persistente del recién nacido (PPHN)</p>
<p>2. HP propia enfermedad cardiaca izquierda</p> <p>2.1 Disfunción sistólica ventricular izquierda</p> <p>2.2 Disfunción diastólica ventricular izquierda</p> <p>2.3 Enfermedad valvular</p> <p>2.4 Obstrucción tracto entrada/salida corazón izquierdo congénita o adquirida</p>
<p>3. HP propia de enfermedad pulmonar y/o hipoxia</p> <p>3.1 Enfermedad pulmonar obstructiva crónica</p> <p>3.2 Enfermedad pulmonar intersticial</p> <p>3.3 Otras enfermedades pulmonares con patrones obstructivos y restrictivos mixtos</p> <p>3.4 Desordenes del sueño</p> <p>3.5 Desordenes hipoventilación alveolar</p> <p>3.6 Exposición crónica a gran altitud</p>

3.7 Enfermedades pulmonares del medio ambiente

4. HP tromboembólica crónica

5. HP multifactorial con mecanismos no claros

5.1 Desordenes hematológicos: anemia hemolítica crónica, desorden mieloproliferativo, esplenectomía

5.2 Sistémicos. Sarcoidosis, histiocitosis, linfagioleiomatosis

5.3 Metabólicos: desordenes acumulación glucógeno, enfermedad Gaucher, enfermedades de la tiroides

5.4 Otros: obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante, falla renal crónica, HP segmentaria

3.4 Fisiopatología

La HP tiene una patogénesis multifactorial, en la que concurren factores genéticos (susceptibilidad individual) y factores exógenos desencadenantes. El aumento de las resistencias vasculares periféricas están relacionadas con distintos mecanismos, tales como la vasoconstricción, el remodelado obstructivo de la pared de los vasos pulmonares, la inflamación y la trombosis.²⁹

La HP se caracteriza por lesión de arterias pulmonares distales, con hipertrofia de la media, proliferación de la íntima con cambios fibróticos, engrosamiento de la adventicia con infiltrados inflamatorios perivasculares moderados, lesiones plexiformes dilatadas y lesiones trombóticas.³²

3.5 Diagnóstico

En pacientes con sospecha de HP, el ecocardiograma doppler ha sido recomendado para detectarla, evaluar disfunción sistólica y diastólica izquierda, crecimiento ventricular izquierdo o enfermedad valvular cardíaca. El cateterismo de corazón derecho es requerido para confirmar la presencia de HP y determinar la gravedad.³²

La HP es definida como una presión arterial media de ≥ 25 mmHg y una presión capilar pulmonar media de ≤ 15 mmHg.¹

a) Manifestaciones clínicas

Los síntomas no son específicos e incluyen falta de aire, fatiga, debilidad, angina, síncope y distensión abdominal. En el examen físico se encuentra elevación paraesternal izquierda, un componente pulmonar acentuado del segundo ruido cardiaco, un soplo pansistólico de regurgitación tricúspide, un soplo diastólico de insuficiencia pulmonar y un tercer sonido del ventrículo derecho. La distensión venosa yugular, la hepatomegalia, el edema periférico, la ascitis y las extremidades frías caracterizan a un paciente en un estado más avanzado. Por lo general, los ruidos pulmonares son normales.³³

b) Ecocardiograma

Se ha propuesto como técnica la medición de la velocidad de regurgitación de la válvula tricúspide (RVT) obtenida por ecocardiograma y a la vez da un estimado de la presión sistólica de la arteria pulmonar (PSAP). Algunos estudios han demostrado una razonable correlación entre la PSAP por ecocardiograma y el cateterismo corazón derecho, considerando que hay limitaciones operador-dependiente y pobre visualización. Otras medidas ecocardiográficas consideradas de utilidad son la excursión sistólica del plano anular tricúspide (TAPSE), medida reproducible de gravedad en HP y función ventricular derecha.²⁹

Es bien conocido que una elevada presión sistólica ventricular derecha (PSVD) o presión sistólica de la arteria pulmonar (PSAP) por ecocardiograma no es una prueba sensible ni específica para la detección de HAP. Una reciente revisión sistemática de la literatura, comparó PSAP por ecocardiograma y por cateterismo derecho, estos autores encontraron un coeficiente de correlación de PSAP por ecocardiograma comparado con cateterismo derecho, alto de 0.84 para pacientes con enfermedad cardiaca izquierda, pero más bajo (0.58) para enfermedad cardiaca derecha. Los autores calculan la diferencia de medición entre ecocardiograma y cateterismo derecho de más de 10 mmHg en 37.6% de los casos.³⁴

Las últimas guías clínicas para HP recomiendan realizar más estudios para HP en aquellos pacientes con disnea inexplicable cuando la PSVD es mayor a 40 mmHg.¹

c) Pruebas de función pulmonar y análisis de gases en sangre arterial

Es habitual que los pacientes con HP tengan una capacidad de difusión pulmonar disminuida para el monóxido de carbono (en general, entre el 40 y el 80% del valor predicho) y una reducción del volumen pulmonar de leve a moderada. También se puede detectar la obstrucción de la pequeña vía aérea.²⁹

d) Gammagrafía pulmonar de ventilación/perfusión

Una gammagrafía de ventilación/perfusión de probabilidad normal o baja excluye eficazmente la HP tromboembólica con una sensibilidad del 90 al 100% y una especificidad del 94 al 100%. Mientras una gammagrafía de ventilación/perfusión en la HP puede ser normal, también puede revelar pequeños defectos periféricos únicos y defectos no segmentarios en la perfusión.²⁹

e) Tomografía computarizada de alta resolución, tomografía computarizada de contraste mejorado y angiografía pulmonar

Ofrece vistas detalladas del parénquima pulmonar y facilita el diagnóstico de la enfermedad pulmonar intersticial y del enfisema. La angiografía también puede ser útil para la evaluación de posibles vasculitis o malformaciones arteriovenosas pulmonares.²⁹

f) Análisis de sangre e inmunología

Hasta el 40% de los pacientes con HAPI han desarrollado anticuerpos antinucleares, normalmente en títulos bajos (1:80). La ES es la más importante de las enfermedades de tejido conectivo a excluir, puesto que esta enfermedad tiene una alta prevalencia de HAP.

g) Cateterismo cardiaco derecho (CCD)

El CCD es necesario para confirmar el diagnóstico de la HP, valorar la gravedad del deterioro hemodinámico y analizar la vaso reactividad de la circulación pulmonar.

Los procedimientos del CCD tienen bajos índices de morbilidad (1.1%) y mortalidad (0.055%) cuando se les lleva a cabo en centros especializados. Éstas son las variables que hay que registrar durante el CCD: PAP (sistólica, diastólica y media), presión auricular derecha, presión del ventrículo derecho. A ser posible, el gasto cardiaco debe medirse por triplicado por termodilución o por el método de Fick, si se obtiene el valor del consumo de oxígeno. El método de Fick es obligatorio cuando hay cortocircuitos sistémicos-pulmonares. Asimismo, deberían determinarse las saturaciones de oxígeno de la vena cava superior, de la arteria pulmonar y de la sangre arterial sistémica.³⁵

Se realiza prueba de aplicación de iloprost, lo que orienta a aquellos pacientes que responderán a vasodilatadores como parte del tratamiento; una respuesta aguda positiva (respondedor agudo positivo) se define como una reducción de la PAP media ≥ 10 mmHg para alcanzar un valor absoluto de PAP media ≤ 40 mmHg con un gasto cardiaco invariable o aumentado. Aproximadamente sólo el 10% de los pacientes con HAPI cumplirán estos criterios.³⁵

4. Hipertensión pulmonar asociada a esclerosis sistémica o escleroderma (HP- ES)

El diagnóstico requiere resultados hemodinámicos obtenidos por cateterismo derecho y exclusión de otras entidades como disfunción ventricular izquierda y enfermedad pulmonar parenquimatosa.

4.1 Epidemiología

La mayoría de los datos epidemiológicos han sido obtenidos de registros internacionales y estudios multicéntricos. Los registros que han incluido pacientes con enfermedades del tejido conectivo, como el *US REVEAL* (registro para evaluar el manejo de la enfermedad HAP a corto y largo plazo), *US Pulmonary hypertension Connection Registry* (España y China) y *COMPERA* (Europeo).¹

El porcentaje de HAP asociado a enfermedades de tejido conjuntivo (HAP-ETC) es de 15-30%. La mayoría de los pacientes con HAP-ETC tienen ES (ver tabla 8).³⁶⁻³⁸

Tabla 8. Distribución de diagnósticos en HAP-ETC

	US REVEAL	Cohorte China	Registro Korea
Esclerosis sistémica	399 (62.3%)	8 (6%)	91 (28.3%)
LES	110 (17.2%)	62 (49%)	115 (35.3%)
EMTC	52 (8.1%)	(9%)	19 (5.9%)
AR	28 (4.4%)	(3%)	25 (7.8%)
DM/PM	6 (0.9%)	---	14 (4.4%)
Síndrome Sjögren	3 (1%)	(16%)	---
EITC	9 (2%)	(2%)	---
Superposición	---	---	29 (9%)

Actualmente, se considera que la prevalencia de la HAP es de aproximadamente de 7.85% a 13% en la ES cuando el diagnóstico se basa en estrictos criterios hemodinámicos. El estudio DETECT, es un estudio transversal de esclerosis sistémica para desarrollar un algoritmo para HAP, los autores incluyen 466 pacientes quienes tenían una evolución de la enfermedad de 3 años y un DLCO

(capacidad de difusión de monóxido de carbono) <60%, de los cuales tras el protocolo de estudio, 19% se confirmó HAP por cateterismo derecho.³⁹

La incidencia de HAP fue estimada en el estudio *ItinerAIR- Sclerodermie*, una cohorte prospectiva de pacientes con ES. Fueron estudiados para HAP, 384 pacientes seguidos por 41 meses, de los cuales 8 pacientes resultaron con HAP, el cual es una incidencia de 0.61 casos por 100 pacientes- año.⁴⁰

4.2 Factores de riesgo

Se deben considerar características clínicas como la ES variedad limitada, edad de inicio tardío, tiempo de enfermedad prolongada (>10 años) y una reducción en la capacidad de difusión del monóxido de carbono (DLCO). La ES difusa posee un menor riesgo de HP, sin embargo la HP se puede desarrollar en alguna etapa de la enfermedad pulmonar intersticial.¹

El reciente estudio de *PHAROS* (Pulmonary hypertension assessment and recognition of outcomes in scleroderma), un estudio prospectivo de 22 centros en Estados Unidos, revela características de 131 pacientes que desarrollaron HP, incluyendo edad >60 años, género femenino (84%), ES limitada (90%) y DLco<50% del predicho.⁴¹

4.3 Patogénesis

HAP es una enfermedad caracterizada por vasoconstricción y remodelamiento de los pequeños y grandes vasos pulmonares.

La característica patológica en la HAP, es la inflamación, según lo sugerido por la infiltración de células inflamatorias en los espacios perivasculares pulmonares. El incremento en marcadores de inflamación como proteína inflamatoria de macrófagos-1 α , IL-1 β , IL-6 y P- selectina son observados en formas severa de HAPI.¹

Existe un estado de desequilibrio entre vasoactivos, factores de crecimiento y mediadores proliferativos que conducen a la regulación aberrante de las células endoteliales y de músculo liso, así como los fibroblastos.¹

Los individuos genéticamente susceptibles expuestos a estímulos del medio ambiente, resultan en activación inmune. El TFG- β estimula la proliferación de fibroblastos y dirige el incremento de síntesis de colágena, resultando en las manifestaciones de fibrosis de la ES. La estimulación de fibroblastos resulta en incremento del factor crecimiento endotelial vascular, el cual provoca una aberrante angiogénesis.^{42,43}

En el contexto de los pulmones, la activación de los macrófagos incrementa la producción de TGF- β , factor de necrosis tumoral α , factor de crecimiento derivado de plaquetas y fibronectina, resultando en las características clínicas y radiográficas de fibrosis pulmonar y neumonía inflamatoria no específica.^{42,43}

HP-ES muestra características similares con HAPI, incluyendo hiperplasia de la íntima, hipertrofia medial, fibrosis adventicia e infiltrados inflamatorios. Sin embargo en HP-ES se observan pocas lesiones plexiformes, mayor fibrosis de la íntima, más heterogeneidad y una alta prevalencia de lesiones veno-oclusivas.¹

La autoinmunidad parece ser un componente central en el remodelamiento de la vasculatura pulmonar en HP. Estos cambios vasculares, se refieren a la apoptosis de células endoteliales, incremento en la expresión de moléculas de adhesión celular junto a la activación celular, reclutamiento de células inflamatorias, estado pro-coagulante, proliferación de la íntima y fibrosis de la adventicia que lleva a la obliteración de los vasos, descrito en etapas tempranas de la ES.¹

El incremento en la molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-1 (ICAM-1) y E-selectina en ES, refleja lesión endotelial. El incremento a nivel sérico del VEGF y factores angiostáticos, también reflejan la angiogénesis alterada, una característica patológica fundamental en la HP-ES.^{1, 45}

4.4 Autoinmunidad

Los autoanticuerpos presentes en ES, incluyen anti-topoisomerasa I, anti-centrómero, anti-RNA polimerasa I/ II, anti Pm/Scl, anti-fibrilarina (U3RNP), anti-Th; anti-matrix metaloproteinasas -1-3

(anti-MMP 1 y 3), anti-PDGF, anticuerpos anti-células endoteliales (aECA) y anti-fibrilina-1 (anti-FBN 1).^{1,44}

Los anticuerpos del activador tisular del plasminógeno unido a la fibrina en pacientes con ES limitada y anticuerpos anti-topoisomerasa II, en asociación con el antígeno HLA-B35, y anti-U3RNP se han reportado en la HP-ES.⁴⁴

Anticuerpos IgG dirigidos contra las células endoteliales, obtenidos de pacientes con HAPI y HP-ES muestran perfiles de reactividad distintos contra antígenos de lechos micro y macrovasculares.

Los anticuerpos antifibroblastos se encuentran en el suero de pacientes con HP-ES, son sospechosos de causar disfunción de fibroblastos que conduce a la remodelación de la pared vascular pulmonar.⁴⁵

Los anticuerpos contra el receptor endotelina-1 tipo A y angiotensina II tipo 1 están asociados con enfermedad más grave y predice mortalidad relacionada a ES, también inducen señalización extracelular cinasa 1/2 (ERK 1/2) e incremento en la expresión del TGF- β en células endoteliales.⁴⁵

4.5 Genética

Si bien varias alteraciones genéticas se han descubierto en HAP heredable en la última década, incluyendo la identificación de numerosas alteraciones en el receptor de proteína morfogenética ósea tipo 2 (BMP2), mutaciones en receptor activina A tipo II similar a cinasa-1 (ACVRL1), no hay estudios que los identifiquen en HP-ES.

La caveolina-1 (CAV-1) codifica una proteína de membrana, abundante en el endotelio y otras células del pulmón, es un gen novedoso para HAP heredable que se identificó en la ausencia de cualquier TGF- β .

Wipff et al. mostró diferencias significativas en la frecuencia de inserción de la base 6 en el intrón 7 de endogлина, entre los pacientes con ES con y sin HAP.

4.6 Características clínicas

Los pacientes con HP-ES tienden a ser asintomáticos en etapas tempranas de la enfermedad o solo síntomas relacionados a los órganos envueltos por ES. Los síntomas no son específicos, incluyen disnea progresiva con ejercicio, el deterioro funcional que puede ser confundido por la disfunción global de la enfermedad. Sin embargo, los signos de disfunción ventricular derecha llegan a ser más evidente conforme la enfermedad progresa.⁴⁵

También se puede producir afectación cardíaca directa por lesión vascular, fibrosis y cambios inflamatorios. Estos procesos pueden conducir a disfunción ventricular izquierda; existiendo una mayor prevalencia según la evaluación de la ecocardiografía en la HP-ES en comparación con HAPI.^{1,45}

Los pacientes con HP-ES presentan con mayor frecuencia derrame pericárdico en comparación con HAPI, aunque se desconoce si los derrames están relacionados con la disfunción progresiva del ventrículo derecho o para los procesos inflamatorios subyacentes.

La disfunción hormonal y metabólica también es común; pro-péptido natriurético cerebral N-terminal (NT-proBNP), es secretado en respuesta al estiramiento ventricular, es frecuentemente elevado en la HP-ES y parece ser significativamente mayor que en los pacientes con HAPI a pesar de las perturbaciones hemodinámicas similares. Del mismo modo, la hiponatremia es común en la HP-ES y auguran un mal pronóstico.⁴⁵

Un reciente meta-análisis de Lefevre et al. sugiere que la mayoría de los factores hemodinámicos pronóstico en la HAPI, como la presión arteria pulmonar (PAPm) y la presión auricular derecha (RAP), así como la evaluación funcional con la distancia en 6 minutos, son tan fiables como factores pronósticos en la HP-ES.

Overbeek et al. mostró basado en mediciones indirectas, que la contractilidad del ventrículo derecho es menor en pacientes con HP-ES que en la HAPI. De acuerdo a esta observación, un estudio reciente demostró que la función intrínseca miocárdica del ventrículo derecho se deprime significativamente en la HAP-ES en comparación con la HAPI en una poscarga vascular pulmonar similar. Estos

hallazgos apoyan la idea de que la disfunción sistólica del ventrículo derecho en ES, lleva a la inhabilidad del ventrículo derecho a compensar una precarga alta, lo que puede ser responsable de la pobre supervivencia.⁴⁵

4.7 Detección de hipertensión pulmonar asociada a esclerosis pulmonar

La identificación precoz de los pacientes con HP-ES continúa siendo un reto debido a la historia natural de la enfermedad y las herramientas de detección limitadas.

Diversas organizaciones como el Colegio Americano de Cardiología, Sociedad Americana torácica, Asociación hipertensión pulmonar y la Sociedad Europea de Cardiología/Sociedad Europea Respiratoria han publicado una serie de recomendaciones para la detección, basándose principalmente en los hallazgos anormales de la ecocardiografía transtorácica. Herramientas como el DLco, solo o en combinación con NT- proBNP, no suelen ser utilizadas rutinariamente. Estas implementaciones varían entre las diferentes instituciones.³⁹

El grupo de estudio DETECT, sugirió un algoritmo para detectar HP temprana, con datos clínicos y pruebas no invasivas. En el estudio la tasa de cateterismo derecho requerido en la población con esclerosis de alto riesgo fue del 62% comparado al 40% de acuerdo a las guías. Sin embargo la proporción no confirmada del diagnóstico de HP, fue similar entre este algoritmo y las guías de la ESC/ERS (65% vs 60%).³⁹

Recientemente Khanna et al. publicaron recomendaciones detalladas para la detección temprana de HP en pacientes con ES, éstas recomiendan pruebas de función respiratoria (PFR), prueba de aliento DLco, ecocardiograma transtorácico (ETT) y medición de NT- proBNP, tan pronto como aparezcan signos y síntomas sugerentes de HP. Varios autores sugieren PFR y ETT anualmente en pacientes con ES.^{40,41}

Se ha incrementado el uso de la resonancia magnética, medición del ventrículo derecho y vasculatura pulmonar, buscando marcadores específicos de la enfermedad.

La prueba de caminata de 6 metros (6MWT) en pacientes con ES tienen limitaciones por la enfermedad musculoesquelética y enfermedad pulmonar intersticial subclínica, afectando su capacidad pronóstica y evaluación de la respuesta a la terapia.^{40,41}

4.8 Tratamiento

a) Vasodilatadores pulmonares

Hay 4 clases de vasodilatadores pulmonares que se dirigen a 3 vías:

- Inhibidores de la fosfodiesterasa-5 y estimuladores de la guanilato ciclasa solubles son medicamentos orales que se dirigen a la vía del óxido nítrico y actúan para aumentar la concentración de óxido nítrico y por lo tanto promover la vasodilatación en la vasculatura pulmonar.^{1, 45}
- Los antagonistas del receptor de la endotelina son terapias orales que bloquean la unión de endotelina-1 a su receptor para evitar la vasoconstricción mediada por endotelina.¹
- Los análogos de la prostaciclina actúan sobre la vía de la prostaciclina para estimular monofosfato cíclico de adenosina, que promueve la vasodilatación.^{1, 45}

Las guías de tratamiento actuales son generalizadas para todo el grupo 1 de HAP sin recomendaciones distintas para ES-HP.

b) Terapia de soporte

Los pacientes deben recibir vacunas de rutina. Los pacientes con una saturación de oxígeno de menos de 88% en aire ambiente en reposo, con la actividad o con el sueño, se debe dar oxígeno suplementario. Los diuréticos se deben utilizar para controlar los síntomas de sobrecarga de volumen de insuficiencia cardíaca derecha. La digoxina puede ser útil para aumentar la contractilidad del

ventrículo derecho. Por último, las mujeres en edad fértil deben ser aconsejados contra el embarazo, ya que este se asocia con una tasa de mortalidad del 15% al 30%.^{1,46}

c) Inmunosupresores

En general, en estos momentos no hay directrices específicas para el uso de inmunosupresores. Un número de series de casos han reportado el uso de inmunosupresión agresiva para el tratamiento de la ES-HP. Sánchez y sus colegas estudiaron a 28 pacientes con HP y enfermedades de la colágena, los tratados con ciclofosfamida IV monoterapia con o sin glucocorticoides en dosis altas por sí solas durante al menos 3 meses, o en combinación con terapias de HP específico. Ocho (5 LES-HAP y 3 EMTC-PAH) de 28 pacientes respondieron a la terapia con inmunosupresión. Ninguno de la ES- HP respondió a la inmunoterapia.⁴⁷

6. Biomarcadores

Los biomarcadores en general se refiere a alguna sustancia medible en estado biológico. En el punto de vista clínico, es de suma importancia, ya que predice el resultado "médico" de una enfermedad y su progresión. En los últimos años, se ha demostrado que miRNAs se encuentran en la sangre, plasma, orina, plaquetas, y la saliva en una forma sorprendentemente estable.⁴⁸

Los biomarcadores plasmáticos actualmente usados o propuestos en HP son:⁵³

- Disfunción/activación neurohormonal- péptidos natriuréticos, endotelina 1, adrenomedulina, copeptina.
- Lesión miocárdica- troponinas
- Inflamación/estrés oxidativo- interleucinas, proteína C reactiva e isoprostanos
- Daño vascular/remodelamiento- factor de von Willebrand, angiopoyetina.
- Falla terminal a órgano- creatinina, sodio, ácido úrico
- Reguladores transcripcionales/expresión de genes- microRNA

5.1 Micro RNA

Los microARN (miRNA) son pequeñas RNAs, expresadas de forma endógena no codificantes que regulan la expresión génica a nivel post-transcripcional, a través de la degradación o la inhibición de la traducción de sus ARNm diana. Intervienen en el desarrollo temprano, la proliferación celular, la diferenciación y la apoptosis. Los miRNA detectados en la sangre, conocidos como miRNA circulantes, pueden originarse de células muertas o secretadas por células vivas y actuar como factores paracrinos.⁹

Estudios recientes identificaron miRNA circulantes en la enfermedad arterial coronaria e HP, los cuales podrían actuar como potencial biomarcador para el diagnóstico y proporcionar una nueva oportunidad de intervención terapéutica.⁹ Características de la HP, como inflamación e hipoxia, se utilizan para modular la expresión de miRNA y explicar su desregulación en la patogénesis de la HP. Se cree pueden modular las vías de señalización y conducir a la remodelación vascular, desarrollo de HP, hipertrofia del ventrículo derecho y falla del ventrículo derecho.^{56, 57}

Varios miRNA han sido descritos sobrerregulados o infraregulados en tejidos de pacientes con ES comparado con controles, incluyendo piel, fibroblastos o suero. Los miRNA descubiertos a la fecha en ES por lo general apuntan a vías fibróticas como el TGF- β . Dos miRNA que se han involucrado en múltiples enfermedades fibróticas son el miR-21 y miR-29.⁵⁴

a) MiR21

Es un miRNA expresado ubicuamente, que se considera tradicionalmente como un miRNA oncogénico (oncomiR). El miR-21 también se ha estudiado en el desarrollo de HP, se considera afecta las células del músculo liso, incrementa la proliferación y disminuye la apoptosis. Sus niveles elevados se asocian con fibrosis, aunque se desconoce su verdadero potencial en el desarrollo de HP.^{48, 55, 56}

Un estudio sugirió que la expresión del miR-21 se regula a la baja en el modelo HP inducida por enfermedades del tejido conectivo pero no en ratas con hipoxia crónica. El miR-21 mostró un nivel de expresión similar en ambas células hipóxicas y normoxémicas, mientras que TGF- β 1, un regulador importante de la remodelación vascular pulmonar en HP, reduce la expresión de miR-21.⁴⁸

En otras publicaciones se describió la regulación a la baja de miR-21 en tejido de pulmón humano y suero de pacientes con HAPI.⁴⁹ El papel crucial de miR-21 en la patología vascular ha sido evidenciado por resultados de que el bloqueo de miR-21 impide el desarrollo hiperplásico de la íntima después de una lesión vascular aguda y fibrosis pulmonar inducida por bleomicina. Yang et al. también encontró que la inhibición de miR-21 disminuye en la HP inducida por hipoxia crónica y atenúa el remodelado vascular pulmonar.^{48, 50}

Wei, et al. considero que miR-21 podría correlacionarse con la gravedad de la HP.⁵⁸

Aunque una asociación entre miR-21 e HP se identifica, la función de miR-21 en el desarrollo de la misma es inconsistente en muchos modelos experimentales. Por lo tanto, se necesitan más investigaciones para aclarar el papel de miR-21 en la patogénesis de HP.⁴⁸

b) MiR1y MiR133b

Los miRNA-1 y miR-133b se agrupan en el mismo locus cromosómico, se expresan en el músculo esquelético y cardíaco, se transcriben juntos, una transcripción generando dos miRNAs maduros. El miRNA-1 es el más abundante en el corazón.

Estos 2 miRNAs se consideran antihipertróficos, están involucrados en la organización de la sarcomera y cascada de señalización, son liberados en la circulación después de la lesión del tejido.⁵²

El mir- 1 esta principalmente descrito en la apoptosis, esto descrito por la orientación en la síntesis de HSP-60, HSP 70 y Bcl-2. Estudio reveló que de la HP moderada a grave en sujetos humanos está asociada con regulación a la baja significativa de los niveles plasmáticos de miR-1.^{48,55}

El miR-133b presenta regulación a la baja en hipertrofia cardiaca y regulación al alta reduciendo la hipertrofia. MiR-133b mostró regulación a la alta, significativamente, en la HP moderada y mostraron mayor incremento en sujetos HP graves.^{48, 51,55}

5.2 TGF- β

El TGF- β regula diversos procesos celulares, como la proliferación, la diferenciación, la apoptosis y la migración celular. La señalización del TGF- β está mediada por una superfamilia de receptores, entre los que se incluye el BMPR2. La señalización por esta vía es altamente variable y depende de la combinación de los receptores involucrados. Cuando el TGF- β se une a su receptor, éste fosforila los factores de transcripción Smad, que modulan la expresión de una gran cantidad de genes.²³

Ampliamente asociado con la patogénesis de la ES. Su activación y la falta de inhibición parecieran culminar en fibrosis.

La vía de señalización del TGF- β ha sido involucrada en la HAP, ya que se ha identificado una mutación en el BMPR2. Las proteínas morfogenéticas óseas pueden influenciar la proliferación, la migración, la diferenciación y la apoptosis celular, así como también el depósito y la secreción de la matriz extracelular. Alguno de estos procesos, o todos ellos, pueden estar alterados en la HAP y la ES.

Se considera que la activación de la vía del BMPR2 en la circulación pulmonar conduce a la inhibición de la proliferación celular, especialmente de las células del músculo liso de las arterias pulmonares. El mecanismo relacionado con la inhibición de la proliferación aún no se ha dilucidado, si bien la estimulación del TGF-beta en las células epiteliales y las células del músculo liso vascular inducen el arresto del ciclo celular. Los autores postulan que las mutaciones en el BMPR2 podrían resultar en la señalización defectuosa de los factores Smad y en la incapacidad de regular el arresto del ciclo celular. El efecto consiguiente sería la proliferación descontrolada de las células del músculo liso vascular, como ocurre en la HAP.^{23,44}

5.3 Ácido úrico

El ácido úrico sérico es el producto final de un equilibrio entre la descomposición metabólica de los nucleótidos de purina y la eliminación a través de los riñones. La concentración de ácido úrico ha mostrado incremento en varias condiciones caracterizadas por alteración en el metabolismo oxidante, como la insuficiencia cardíaca crónica y la enfermedad pulmonar intersticial (ILD). Los niveles elevados también se han encontrado en pacientes con HP de diversas etiologías, a menudo en asociación con la gravedad de la enfermedad. De hecho, los estudios han sido consistentes en demostrar que los valores de la ácido úrico se incrementan en pacientes adultos y pediátricos con HAPI, sus niveles se correlacionan con parámetros hemodinámicos y la capacidad funcional, y se ha descrito incluso predecir la mortalidad.¹⁰

Sin embargo, los niveles de ácido úrico en plasma dependen de la edad y sexo, son influenciados por la insuficiencia renal, hipoxemia, ingesta de alopurinol y diuréticos; por lo tanto su valor como biomarcador en la HP se limita.⁵³

5.4 Vitamina D

A pesar de que la vitamina D puede ser obtenida por aportes nutricionales, la principal fuente es la fotosíntesis cutánea inducida por radiación ultravioleta B (UVB).

Durante muchos años se consideró que la vitamina D actuaba exclusivamente sobre el metabolismo óseo, regulando los niveles séricos de calcio. A principios de la década de 1980 se descubrió que los

macrófagos de las enfermedades formadoras de granulomas podían generar 1,25(OH)₂ vitamina D, por lo que comenzaron a estudiarse las acciones de esta vitamina sobre el sistema inmune.⁵⁹

La presencia de receptores de vitamina D en células inflamatorias humanas activadas y la capacidad de la vitamina D para inhibir la proliferación de linfocitos T, confirmaron el rol inmunomodulador de esta vitamina. Otras acciones no clásicas fueron estudiadas desde ese momento, con principal interés en las acciones angioproliferativas e inmunomoduladoras.

Se han estudiado las propiedades inmunorreguladoras de la vitamina D, específicamente su papel en la maduración de las células dendríticas, volviéndolas tolerógenas; el aumento de linfocitos T reguladores y la inhibición que ejerce en el desarrollo de linfocitos Th1 posibilitan su uso terapéutico en enfermedades autoinmunes.⁵⁹

7. Justificación

La hipertensión pulmonar asociada a esclerosis sistémica (HP-ES) tiene un dramático impacto en el curso clínico y supervivencia, siendo la principal causa de mortalidad en la ES. A pesar de los recientes avances en el desarrollo de terapias dirigidas a la HAPI, los pacientes con HP-ES son frecuentemente menos sensibles a la terapia con general peores resultados en comparación con HAPI, por lo que es fundamental reconocer marcadores séricos tempranos de la enfermedad para facilitar la detección precoz y seguimiento.

La asociación entre la concentración de diferentes miRNA e HP se ha considerado un campo de oportunidad, no se ha logrado determinar completamente cuales y en qué forma estos están involucrados, por lo que tomamos algunos de los miRNA estudiados en patología pulmonar y cardiaca como lo son mir-21, mir-1 y mir-133b para su estudio en HP- ES, hasta ahora no completamente comprendidos.

8. Objetivos

Objetivo General

- Determinar la asociación entre la concentración de miRNA- 21, miRNA 1 y miRNA 133b e hipertensión pulmonar asociada a esclerosis sistémica.

Objetivos Particulares

- Determinar la concentración de miRNA- 21, miRNA 1 y miRNA 133b en un grupo de pacientes portadores de esclerosis sistémica.

- Evaluar la concentración de miRNA- 21, miRNA 1 y miRNA 133b en el mismo grupo de pacientes, comparando aquellos con y sin hipertensión pulmonar.

- Determinar la concentración de miRNA- 21, miRNA 1 y miRNA 133b en un grupo control.

- Determinar la concentración de miRNA- 21, miRNA 1 y miRNA 133b en un grupo de hipertensión pulmonar idiopática.

- Determinar la concentración de TGF- β en pacientes con esclerosis sistémica con y sin hipertensión pulmonar.

- Determinar la concentración de vitamina D en pacientes con esclerosis sistémica con y sin hipertensión pulmonar.

9. Hipótesis

Hipótesis Alterna

Existe asociación entre mayor concentración de miRNA -21, miRNA 1 y miRNA 133-b en hipertensión pulmonar en pacientes con esclerosis sistémica.

Hipótesis Nula

Existe asociación entre menor concentración de miRNA -21, miRNA 1 y miRNA 133-b en hipertensión pulmonar en pacientes con esclerosis sistémica.

9. Material y método

Diseño del estudio

Se trató de un estudio transversal, descriptivo, comparativo y analítico, en el cual se incluyó a pacientes con ES, en seguimiento en la consulta externa del departamento de Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”.

Población de estudio

Pacientes ambulatorios consecutivos, portadores de ES, que se encontraran en seguimiento en la consulta externa del departamento de Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez”.

Criterios de Selección

a) Criterios de Inclusión:

- Pacientes que reunieron los criterios ACR de 1980 para esclerosis sistémica.
- Grupo control: personas sanas, mayores de 18 años de edad, sin diagnóstico de enfermedades reumatológicas.

b) Criterios de Exclusión:

- Pacientes del grupo con esclerosis sistémica, que no contaran con estudios paraclínicos actualizados.

En el grupo de pacientes con esclerosis sistémica se documentó edad, género, comorbilidades (síndrome de superposición, hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus, dislipidemia, entre otras), tratamiento farmacológico al momento de realizarse las mediciones y tiempo de evolución de la enfermedad.

Se realizó semiología de las manifestaciones vascular periférica, cutánea, gastrointestinal, musculo esquelética, cardiopulmonar y renal Se realizó exploración física considerando las siguientes variables: (ver anexo 1).

- Fenómeno de Raynaud
- Índice de Rodnan
- Índice distancia entre pulgar y palma de la mano
- Frotos tendinosos
- Calcinosis
- Fuerza muscular
- Artritis

Se registró el valor de anticuerpos como anti centrómero B, anti topoisomerasa I (anti Scl-70), últimas determinaciones de reactantes de fase aguda, leucocitos, hemoglobina, hematocrito, plaquetas, creatinina, ácido úrico, C3 y C4.

En el caso del grupo control, estos se parearon por edad y género.

Se tomaron pacientes con hipertensión pulmonar idiopática de la consulta externa de Cardioneumología que cumplieran las recomendaciones diagnósticas del ECR/ERS, y entraran en el grupo I de la clasificación de la OMS de hipertensión arterial pulmonar.

Colección y procesamiento de muestras

A la población se le realizó una toma de sangre venosa. El personal responsable del procesamiento de las muestras, desconocía información acerca del paciente o sujeto control en cuestión.

- ✓ Cuantificación miRNA en el suero

La extracción del RNA se realizó utilizando el kit miRNeasy Suero/ plasma, a partir de de la adicción de *C. elegans* en el control. Los miRNAs fueron transcritos utilizando el microRNA transcripción

reversa kit TaqMan (Applied Biosystems). La reacción de transcripción se incubó durante 30 minutos a 16 ° C, 30 minutos a 42 ° C, ya 5 minutos a 85 ° C. Los miRNAs fueron amplificados utilizando un kit TaqMan RT microRNA (Applied Biosystems), y se detectan con TaqMan TM microRNA Ensayos hsa-miR-1, hsa-miR-21 y miR-133 cebadores y sondas (Applied Biosystems). Las condiciones de ciclación fueron: desnaturalización inicial a 95 ° C durante 10 min, seguido de 45 ciclos a 95 ° C durante 15 s, a 60 ° C durante 40 s, y a 72 ° C durante 10 s. PCR se realizó usando un sistema Light Cycler TM 480 II (Roche Applied Science, Basilea, Suiza) con el kit de sondas Light Cycler 480 (Roche Applied Science). Concentraciones miRNA se normalizaron con concentraciones de miR-39.

10. Análisis estadístico

Para la estadística descriptiva, se utilizaron proporciones y porcentajes para describir variables categóricas, mientras que para las variables dimensionales se utilizaron promedios \pm una desviación estándar. Para los análisis de correlación se utilizó el coeficiente rho de Spearman. Las diferencias entre grupos se buscaron mediante la prueba de Mann Whitney a dos colas y se fijó un valor de significancia en $p < 0.05$. Todos los análisis se realizaron en el paquete estadístico GraphPad Prism versión 4.02 (GraphPad Inc. San Diego, California).

11. Resultados

Se analizó a un total de 37 pacientes con ES, 27 pacientes con variedad limitada, 10 pacientes con variedad difusa. Se tomaron 10 pacientes con HAPI y 23 pacientes controles, estos últimos pareados por edad.

Del total del grupo de pacientes con ES, 35 (94.6%) fueron mujeres y 2 (5.4%) hombres, la edad promedio fue de 50.6 años (± 12.5 DS) y el tiempo de evolución de la enfermedad, fue en promedio de 9.1 años (± 7.6 DS).

Dentro de nuestros pacientes con ES, 8 pacientes con síndrome de superposición. Un paciente con datos clínicos de lupus eritematoso sistémico, síndrome de Sjögren y ES variedad limitada, 3 pacientes con polimiositis y ES, 1 paciente con dermatomiositis con ES y 3 pacientes con lupus eritematoso sistémico con ES.

En cuanto al tratamiento farmacológico, en el grupo de pacientes con ES, 23 (62.1%) pacientes se encontraban bajo tratamiento con al menos un inmunosupresor y 14 (37.9%) pacientes sin tratamiento inmunosupresor. Quince (40.5%) pacientes se encontraban además en tratamiento con calcio antagonistas, 3 (8.1%) pacientes con sildenafil y 4 (10.8%) pacientes anticoagulados.

Se observó calcinosis en 7 (18.9%) pacientes, principalmente en dedos y codos. Quince pacientes presentaron manifestaciones musculo- esqueléticas, 21 (56.7%) pacientes con manifestaciones gastrointestinales, 14 (37.8%) pacientes con síntomas pulmonares leves, sólo 1 paciente (2.7%) presentó hematuria en última determinación de examen general de orina y 5 (13.5%) pacientes con tasa de filtración glomerular <60 ml/min.

Tres pacientes (8.1%) con índice de Valentini ≥ 6 , los demás pacientes en general tuvieron un índice de 1.97 (± 2.04 DE).(ver tabla 9)

Tabla 9. Características clínicas de pacientes con ES

Variable	
Edad, promedio (DE)	50.6 (12.5)
Femenino	35 (94.6)
Evolución, promedio (DE)	9.1 (7.6)
Variedad, n	
Limitada	20
Difusa	9
Comorbilidades, n	
Superposición	8
HAS	10
DM	10
Medicamentos, n (%)	
Acido micofenólico	12 (32.4)
Metotrexato	12 (32.4)
Azatioprina	2 (5.4)
Ciclofosfamida	0 (0)
Glucocorticoide	4 (10.8)
Calcio antagonista	15 (40.5)
Nitratos	2 (5.4)
Sildenafil	3 (8.1)
Anticoagulante	4 (10.8)
Piel	
Índice de Rodnan, promedio (DE)	13 (6.1)
Calcinosis, n (%)	7 (18.9)
Vascular, n(%)	
Fenómeno de Raynaud	24 (64.8)
Músculo- esquelético, n (%)	
Índice dedo-palma, promedio (DE)	0.42(0.58)
Roces tendinosos	11 (29.7)
Pérdida de fuerza	11 (29.7)
Artritis	4 (10.8)
Gastrointestinal, n (%)	
Pérdida de peso	6 (16.2)
ERGE	17 (45.9)
Hipoperistaltismo	17 (45.9)
Sobrecrecimiento bacteriano	2 (5.4)
Cardiopulmonar, n (%)	
Disnea	14 (37.8)
Síncope	1 (2.7)
NYHA	
Renal, promedio (DE)	
TFG Cockroft-Gault	98.5 (32.4)
Proteinuria	0 (0)
Hematuria, n (%)	1 (2.7)
Índice Valentini, promedio (DE)	1.97 (2.04)

Todos nuestros pacientes con ES se les realizaron ecocardiograma transtorácico y pruebas de función respiratoria. Cuatro pacientes se les realizó cateterismo cardiaco derecho (ver tabla 10).

Tabla 10. Características ecocardiográficas y de laboratorio de pacientes con ES

Variable	
Ecocardiográficos, promedio (DE)	
PSAP mmHg	39.6 (24.4)
FEVI %	61.7 (5.3)
TAPSE mm	21 (5.9)
VFTT m/seg	2.7 (0.7)
Cateterismo, promedio (DE)	
mPAPmmHg	41.7 (16.6)
Pruebas función respiratoria, n (%)	
Disminución CVF	9 (24.3)
Disminución DLCO	8 (21.6)
Anticuerpos, n (%)	
ANA	37 (100)
Anti centromero	17 (45.9)
Anti topoisomerasa I	3 (8.1)
Laboratorios, promedio (DE)	
Hemoglobina	13.4 (1.5)
Leucocitos	6.2 (1.8)
Plaquetas	242 (92.1)
VSG	21.4 (17.2)
Proteína c reactiva	6.6 (10.5)
Creatinina	0.6 (0.1)
Ácido úrico	4.9 (1.5)
C3	104.3 (29.3)
C4	19.0 (8.4)

La mayoría de nuestra población presenta parámetros ecocardiográficos dentro de lo normal, refiriéndonos a una PSAP<40 mmHg, FEVI >55% y velocidad de flujo transvalvular tricúspide <2.8.

Alrededor del 20% de nuestros pacientes con ES variedad limitada o difusa presentaron pruebas de función respiratoria alterada, en los parámetros de capacidad vital forzada (CVF) y difusión pulmonar de monóxido de carbono (DLCO).

Nuestros paciente presentan parámetros de laboratorio dentro lo adecuado, 18.9% obtuvieron ácido úrico ≥ 6.5 , no hay antecedentes en nuestros paciente de uso de hipouricosúricos.

Se evaluó 10 pacientes con hipertensión pulmonar idiopática, todas mujeres. Se les realizó ecocardiograma transtorácico y cateterismo cardiaco derecho. La clase funcional NYHA se encuentra entre II y III (ver tabla 11).

Tabla 11. Características basales de pacientes con hipertensión pulmonar idiopática

Variable	
Edad, promedio (DE)	48.3 (8.7)
Femenino	10 (100)
Evolución, promedio (DE)	11.7 (5.1)
Medicamentos, suma (%)	
Glucocorticoide	0 (0)
Calcio antagonista	1 (10)
Nitratos	0 (09)
Sildenafil	3 (30)
Anticoagulante	8 (80)
Bosentán	1 (10)
Prostaciclina	1 (10)
Macitentan	2 (20)
Riociguat	1 (10)
Ambrisetan	2 (20)
Ecocardiográficos, promedio (DE)	
PSAP mmHg	90.1 (25.3)
FEVI %	60.2 (8.0)
TAPSE mm	16.1 (4.8)
VFTT m/seg	4.5 (0.3)
Cateterismo, promedio (DE)	
mPAPmmHg	60.2 (15.2)
Pruebas función respiratoria, n (%)	
Disminución CVF	3 (30)
Disminución DLCO	3 (30)
NYHA, promedio (DE)	
TFG Cockcroft-Gault, promedio (DE)	78.9 (40.2)
Laboratorio, promedio (DE)	
Hemoglobina	14.4 (1.8)
Leucocitos	6.3 (2.8)
Plaquetas	203 (83.7)
Creatinina	0.8 (0.1)
Ácidoúrico	5.7 (1.2)

En la medición de las concentraciones de miRNA, el miR- 21 mostró una diferencia estadísticamente significativa entre ES sin y con HP, presentando estos últimos menor concentración. El miR-1 y mir-133b no mostraron diferencia significativas entre los 2 grupos. No hubo determinaciones significativas en los niveles de vitamina D ni TGF- β , comparada entre los dos grupos de ES con y sin HP.

Tabla 12. Características clínicas comparativas entre ES con hipertensión pulmonar y ES sin hipertensión pulmonar

Variable	ES sin HP No. (28)	ES con HP No. (9)	Valor p
Edad, promedio (DE)	48.5(13.2)	57.2 (6.98)	0.08
Femenino	26 (92.9)	9 (100)	1.00
Evolución, promedio (DE)	9.1 (7.5)	9.1 (8.4)	
Variedad, número			
Limitada	20	7	
Difusa	8	2	
Comorbilidades, n			
Superposición	6	1	
HAS	8	2	
DM	7	3	
Anticuerpos, n (%)			
ANA	28 (100)	9 (100)	1.00
Anti centromero	12 (42.89)	5 (55.5)	0.7
Anti topoisomerasa I	3 (10.7)	0	0.5
Piel, promedio (DE)			
Índice de rodnan	12.9 (6.3)	15.3 (5.1)	0.1
Calcinosis	6 (21.4)	1 (1.1)	0.6
Vascular, n (%)			
Fenómeno de Raynaud	21 (75)	3 (33.3)	0.04
TFG Cockroft-Gault, promedio (DE)	101.8 (31.1)	88.2 (36.3)	0.4
Laboratorio, promedio(DE)			
VSG	20.1 (15.9)	25.4 (21.4)	0.6
Proteína c reactiva	5.5 (9.9)	10 (12.1)	0.1
Ácidoúrico	4.7 (1.3)	5.7 (1.8)	0.1
ÍndiceValentini, (DE)	1.75 (2.02)	2.6 (2.0)	
miRNA, promedio (DE)			
miR1	0.29	0.26	1.0
miR21	21.44	10.84	0.04
miR133b	0.28	0.30	0.9
Vitamina D, promedio (DE)	8.89 (10.9)	16.1 (12.6)	0.09
TGF- β , promedio (DE)	2898 (1524)	2488 (1891)	0.5

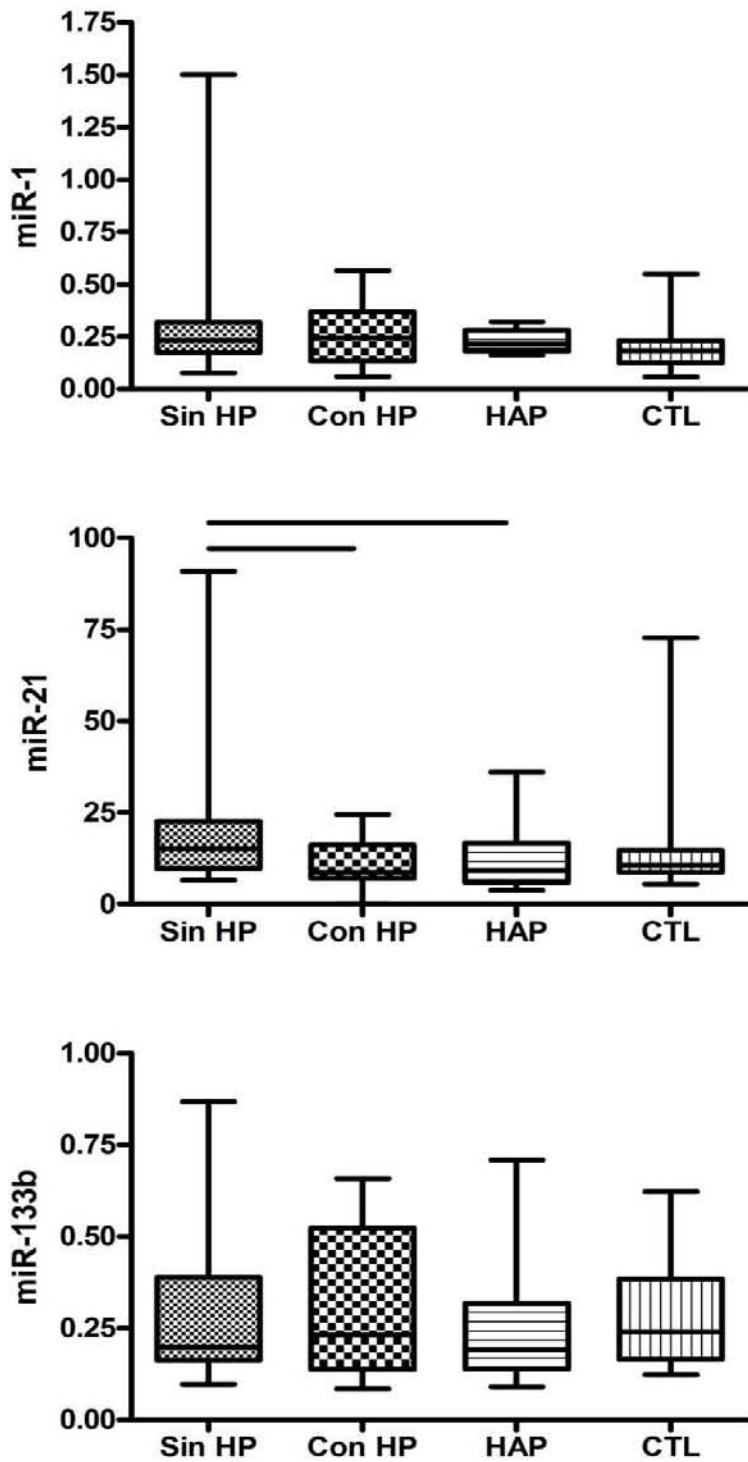
En la escala de gravedad de Medsger los pacientes de ES sin HP fluctúan entre afección normal y leve a nivel orgánico, 21.4% afección moderada de vascular periférico, 25% afección moderada de piel, 7.1% afección moderada gastrointestinal, 3.5% afección grave general, gastrointestinal y 3.5% afección terminal de afección vascular periférico.

En los pacientes de ES con HP igualmente los paciente fluctúan entre afección normal y leve en la mayoría de los órganos, 44.4% presentación afección moderada en vascular periférico y piel, 33.3% afección moderada en pulmón y 22.2% terminal en pulmón.

Tabla 13. Escala de gravedad de Medsger en pacientes con ES sin hipertensión pulmonar y ES con hipertensión pulmonar. (n=28/n=9)

Sistema/órgano	0 Normal	1 Leve	2 Moderada	3 Grave	4 Terminal
General	23/6	3/3	1/0	1/0	0/0
Vascular periférico	12/5	9/0	6/4	0/0	1/0
Piel	2/0	19/5	7/4	0/0	0/0
Tendón /articulación	22/ 5	6/4	0/0	0/0	0/0
Músculo	20/7	8/2	0/0	0/0	0/0
Gastrointestinal	19/4	6/5	2/0	1/0	0/0
Pulmón	19/1	9/3	0/3	0/0	0/2
Corazón	27/8	1/ 1	0/0	0/0	0/0
Riñón	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0

La gráfica 2 representa los 4 grupos de ES sin HP, ES con HP, HAPI y controles; se representa las concentraciones de miR-1, miR-21 y miR133b. Se observa que los pacientes con HP, ES con HP e HAPI, presentan concentración de miR-21 disminuida de manera significativa a las concentraciones de los grupos con ES sin HP y controles (ver gráfica 2).



Gráfica 2. Concentraciones de miR-1, miR-21 y miR133b en los 4 grupos

12. Discusión

Realizando una revisión en el sistema de búsqueda de PubMed, se enlistan alrededor de 121 publicaciones de miRNA e HP, 59 publicaciones sobre miRNA y ES, 1413 publicaciones sobre HP asociada a ES y menos de 10 publicaciones sobre la asociación de miRNA en pacientes con HP asociada a ES.

Sobre las características clínicas de nuestro pacientes y lo descrito en la literatura, nosotros encontramos que hay predominio femenino (94.6%), la edad promedio de diagnóstico fue entre los 30 y 50 años, con 2 pacientes diagnosticados menor a los 25 años, lo cual se asocia a mal pronóstico. El 100% de los pacientes con diagnóstico de ES tienen anticuerpos antinucleares positivos, sin embargo solo 45.9% de la variedad limitada presentan anticuerpos anticentromero positivo y 8.1% de topoisomerasa I para variedad difusa, la prevalencia reportada en la literatura de positividad en las especificidades en pacientes con ES varía en un rango de 50-60% para anticuerpo anti centrómero en variedad limitada y 35% anti topoisomerasa I en variedad difusa, lo que muestra que en nuestra población la positividad de anticuerpos para ES, queda muy por debajo a la prevalencia descrita.

Predominio de anticuerpos anticentromero positivo en pacientes con ES con HP en variedad limitada, concuerda con pacientes con fenotipo a HP e isquemia vascular periférica. El 20% de pacientes de variedad difusa que presentaron HP no obtuvieron anticuerpos anti-topoisomerasa positivo. Las diferencias clínicas entre nuestros paciente de ES con y sin HP no fueron estadísticamente significativas, el fenómeno de Raynaud se encontró en mayor porcentaje en pacientes con ES sin HP (75%) en comparación a ES con HP (33.3%), estadísticamente significativa.

Los hallazgos concuerdan con las revisiones de que el involucro cutáneo no va asociado a gravedad del involucro visceral, sin embargo la variedad limitada o difusa como se ha descrito si se asocia a fenotipos de afección visceral en específico. Se esperaba mayor

porcentaje de fenómeno Raynaud en los pacientes de ES con HP, lo cual ha sido observado en los ensayos clínicos, sin embargo sugerimos estos resultados a que nuestros pacientes con HP se encuentra en tratamiento vasodilatador.

No obtuvimos diferencias estadísticas entre los dos grupos en la escala de gravedad de Medsger, sólo el grupo de ES con HP presento mayor porcentaje de gravedad moderada a grave a nivel pulmonar.

En el presente estudio decidimos valorar la asociación entre algunos miRNA con descripción ya establecida en enfermedades cardiopulmonares, y pacientes con ES con y sin HP, buscando posible marcadores asociados a estas dos patologías; siendo el más importante el miR-21, el cual se ha identificado como un factor regulador crítico del desarrollo de HP. Hay que recordar que cada miRNA es capaz de controlar potencialmente cientos de genes.

En modelos moleculares se desarrolla HP por hipoxia (lesión tisular por hipoxia o monocrotalina), inflamación y proteína morfogenética ósea (BMO), con la extracción de RNA principalmente de muestras pulmonares. En la práctica médica se extrae miRNA de muestras séricas centrales por cateterismo derecho, en nuestro estudio por el tipo de población y protocolo de estudio al que someten durante su seguimiento por consulta externa, se decidió tomar muestra sérica periférica.

Parikh et al. es algunos de los autores que describe el rol central del miR-21 en la intrincada regularización de señales patogénicas que desarrollan HP, en su estudio describe una sobrerregulación tiempo- dependiente en vasos sanguíneos pulmonares remodelados en modelos humanos y roedores sufriendo de HP terminal. Sin embargo el mismo autor habla de un rol protector del miR-21 en HP, sugiriendo que una infraregulación inapropiada puede predisponer a la HP; esto es explicado con recientes observaciones en donde mutaciones de la vía de la proteína morfogenética ósea predispone a la HAP vía disminución de la expresión de miR-21 en respuesta a lesión pulmonar y pérdida de la protección contra la protección de la enfermedad.

Caruso et al. describió en su estudio que el miR-21 está infra regulado en el tejido pulmonar humano y suero de pacientes con HAPI. Herein et al. mostró que la disminución del miR-21 fue selectiva y consistente en los modelos de HP desencadenados por monocrotalina.

Parikh et al. explicaba los resultados contrastantes con probables diferencias en la extracción del RNA de las muestras pulmonares o diferencias en el contexto clínico de la enfermedad. Sin embargo nosotros encontramos resultados similares a los de Caruso, niveles de miRNA-21 disminuidos en nuestros pacientes con HP, sin diferencias por la patología de ES o clasificación de HAPI. No hubo alteraciones en los niveles de miR-21 en nuestros pacientes con ES sin HP.

Otra posible hipótesis de niveles disminuidos de miR-21 en nuestros pacientes de ES con HP a comparación de los resultados obtenidos por Parikh, es que sus mediciones fueron realizadas en muestras pulmonares y en nuestro caso fueron a nivel periférico, donde puede estar los miRNA consumidos por su utilización o reducidos por su focalización en el endotelio pulmonar.

Los miRNA-1 y 133b no mostraron diferencias entre pacientes con ES con y sin HP, los cuales habíamos asociado a una posible alteración en sus niveles, ya que son marcadores que en la literatura se asocia a reestructuración cardíaca, lo cual puede suceder en la historia natural de la HP.

Es importante enfatizar en la utilidad de los miRNA, como en este caso el miRNA-21, y expandir el poder predictivo de su medición permitiéndonos alterar la señalización que lleva a la HP, como medio de detección temprana y terapéutica.

13. Conclusiones

La concentración de miR-21 se encuentra disminuido en pacientes con hipertensión pulmonar, independiente si son pacientes con esclerosis sistémica o hipertensión pulmonar idiopática.

Las concentraciones de miR-1 y miR-133b no mostraron diferencias significativas entre los grupos.

Expandir los estudios de investigación sobre los miRNA que pueden ser potenciales marcadores en hipertensión pulmonar asociada a esclerosis sistémica, que permitan su pronto diagnóstico e intervención.

15. Referencias

1. Sung YK, Chung L. Connective Tissue Disease-Associated Pulmonary Arterial Hypertension. *Rheum Dis Clin North Am.* 2015; 2:295-313.
2. Johnson SR, Granton JT. Pulmonary hypertension in systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Eur Respir Rev.* 2011; 20:277-86.
3. Hudson M, Steele R; Canadian Scleroderma Research Group (CSRG), Baron M. Update on indices of disease activity in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2007; 37: 93-8.
4. Mayes MD, Lacey JV, Jr., Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, et al. *Arthritis Rheum.* 2003; 48:2246-55.
5. Allanore Y, Avouac J, Denton c, et al. In: Biltsma J editor. *EULAR textbook on Rheumatic Diseases.* BMJ publishing, 2012. pp 546- 66.
6. Symmons DP. Disease assessment indices: activity, damage and severity. *Baillieres clin Rheumatol.* 1995; 9: 267-85.
7. Allanore, Y, Dieude, P and Boileau, C. Updating the genetics of systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2010;6: 665-70.
8. Jungel, A, Ospelt, C, Gay, S. What can we learn from epigenetics in the year 2009?. *Curr Opin Rheumatol.* 2010;22: 284-92
9. Derk, C, Jimenez, S. Systemic sclerosis: current views of its pathogenesis. *Autoimmun Rev.* 2003; 2: 181-91.
10. Grotendorst GR. Connective tissue growth factor: a mediator of TGF- β action on fibroblast. *Cytokine growth factor Rev.* 1997;8: 171-79.
11. Kuwana M, Okazaki Y, Yasuka H, et al. Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. *Lancet.* 2004; 364:603-10.
12. Varga J and Lamyatis R. In: Hochberg M editor. *Rheumatology.* Elsevier Saunders; 2014.p.1387-1402.
13. Avouac J, Furnrohr BG, Tomcik M, Palumbo K, Zerr P, Horn A, et al. Inactivation of the transcription factor STAT-4 prevents inflammation-driven fibrosis in animal models of systemic sclerosis. *Arthritis Rheum.* 2011;63:800-9.
14. Fenoglio D, Battaglia F, Parodi A, Stringara S, Negrini S, Panico N, et al. Alteration of Th17 and Treg cell subpopulations co-exist in patients affected with systemic sclerosis. *Clin Immunol.* 2010; 20: 12-20.
15. Fujimoto M, Sato S. B lymphocytes and systemic sclerosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2005;17: 746-51.
16. Ihn H. The role of TGF-beta signaling in the pathogenesis of fibrosis in scleroderma. *Arch Immunol Ther Exp.* 2002;50:325-31.
17. Ingegnoli F, et al. Prognostic model based on nailfold capillaroscopy for identifying Raynaud's phenomenon patients at high risk for the development of a scleroderma spectrum disorder: PRINCE. *Arthritis Rheum.* 2008; 58:2174-82.
18. Cutolo M, Sulli A, Pizzorni C, Accardo S. Nailfold videocapillaroscopy assessment of microvascular damage in systemic sclerosis. *J Rheumatol.* 2000;27:155-60.
19. Sjogren RW. Gastrointestinal motility disorders in scleroderma. *Arthritis Rheum.* 1994;37: 1265-82.
20. Muangchan C, Baron M, Pope J, Canadian Scleroderma Research Group. The 15% rule in scleroderma: the frequency of severe organ complications in systemic sclerosis. A systematic review. *J Rheumatol.* 2013;40:1545-56.
21. Steen VD. Scleroderma renal crisis. *Rheum Dis Clin North Am.* 2006; 22:861-78.

22. van den Hoogen F, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American college of rheumatology/European league against rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2013;72: 1747-55.
23. Steen VD, et al. The many faces of scleroderma. *Rheum Dis Clin N Am.*2008; 34: 1-15.
24. Symmons DP. Disease assessment indices: activity, damage and severity. *Baillieres clin Rheumatol.* 1995; 9: 267-85.
25. Hudson M, Steele R, Canadian Scleroderma Research Group (CSRG),Baron M. Update on indices of disease activity in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2007; 37 :93-8.
26. Clements PJ. Measuring disease activity and severity in scleroderma. *Curr Opin Rheumatol.* 1995; 7 : 517-21.
27. Hudson M, Steele R, Canadian Scleroderma Research Group (CSRG), et al. Update on indices of disease activity in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2007; 37 : 93-8.
28. Medsger TA Jr. Natural history of systemic sclerosis and the assessment of disease activity, severity, functional status, and psychologic well-being. *Rheum Dis Clin North Am.* 2003; 29: 255-73.
29. Galiè N et al. Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión pulmonar. *Rev Esp Cardiol.* 2009; 62: 1464.e1-e58.
30. D'Alonso GE, Barst RJ, Ayres SM, et al. Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. *Ann Intern Med.* 1991; 115: 343-9.
31. Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, et al. Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am coll cardiol.* 2013; 62: D36.
32. Hube- Tena C, Gallegos- Nava S, et al. Pulmonary hypertension in systemic lupus erythematosus: echocardiography- based definitions predict 6 year survival. *Rheumatology.* 2014; doi:10.1093/rheumatology/keu012.
33. Gaine SP, Rubin LJ. Primary pulmonary hypertension. *Lancet.* 1998; 352: 719-25.
34. Finkelhor R, Lewis S, Pillai D. Limitations and strengths of Doppler/ echo pulmonary artery systolic pressure- right heart catheterization correlations: a systematic literature review. *Echocardiography.* 2014; 32: 10-8.
35. Hoepfer MM, Lee SH, Voswinckel R, et al. Complications of right heart catheterization procedures in patients with pulmonary hypertension in experienced centers. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 48: 2546-52.
36. Chung L, Liu J, Parsons L, et al. Characterization of connective tissue disease- associated pulmonary arterial hypertension from REVEAL identifying systemic sclerosis as a unique phenotype. *Chest.* 2010; 138: 1383-94.
37. Hao YJ, Jiang X, Zhou W, et al. Connective tissue disease- associated pulmonary arterial hypertension in chinese patients. *Eur Respir J.* 2014; 44: 963-72.
38. Jeon CH, Chai JY, Seo YL, et al. Pulmonary hypertension associated with rheumatic diseases: baseline characteristics from the Korean registry. *Int J Rheum dis.* 2012; 15:80-9.
39. Coghlan JG, Denton CP, Grünig E, et al. Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: the DETECT study. *Ann Rheum Dis.* 2014; 73:1340-9.
40. Hachulla E, de Groote P, Gressin V, et al. The three-year incidence of pulmonary arterial hypertension associated with systemic sclerosis in a multicenter nation wide longitudinal study in France. *Arthritis Rheum.* 2009; 60:1831-9.
41. Hinchcliff M, Fischer A, Schioppa E, Steen VD, PHAROS Investigators. Pulmonary Hypertension Assessment and Recognition of Outcomes in Scleroderma (PHAROS): baseline characteristics and description of study population. *J Rheumatol.* 2011; 10:2172-9.
42. Hudson M, Steele R; Canadian Scleroderma Research Group (CSRG),Baron M. Update on indices of disease activity in systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum.* 2007; 37: 93-8.

43. Mayes MD, Lacey JV, Jr., Beebe-Dimmer J, Gillespie BW, Cooper B, Laing TJ, et al. Arthritis Rheum. 2003;48: 2246-55.
44. Negi VS, Tripathy NK, Misra R, et al. Antiendothelial cell antibodies in scleroderma correlate with severe digital ischemia and pulmonary arterial hypertension. J Rheumatol 1998;25: 462–6.
45. Kuwana M, Watanabe H, Matsuoka N, et al. Pulmonary arterial hypertension associated with connective tissue disease: meta-analysis of clinical trials. BMJ Open. 2013;3:e003113.
46. Galie N, Corris PA, Frost A, et al. Updated treatment algorithm of pulmonary arterial hypertension. J Am Coll Cardiol 2013;62:D60–72.
47. Sanchez O, Sitbon O, Jais X, et al. Immunosuppressive therapy in connective tissue diseases-associated pulmonary arterial hypertension. Chest 2006; 130:182–9.
48. Gupta S and Li L. Modulation of miRNAs in Pulmonary Hypertension. International Journal of Hypertension. 2015; doi.org/10.1155/2015/169069.
49. Caruso P, MacLean MR, Khanin R et al. Dynamic changes in lung microRNA profiles during the development of pulmonary hypertension due to chronic hypoxia and monocrotaline. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2010; 30: 716–23.
50. Yang S, Banerjee S, de Freitas A, et al. miR-21 regulates chronic hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling. The American Journal of Physiology—Lung Cellular and Molecular Physiology. 2012; 302: L52129.
51. Wei C, Henderson H, Spradley C, et al. Circulating miRNAs as potential marker for pulmonary hypertension. PLoS ONE. 2013; 8: 1-6.
52. Goretti E, Wagner D, Devaux Y. miRNAs as biomarkers of myocardial infarction: a step forward towards personalized medicine?. 2014; 20: 716- 25.
53. Pezzuto B, Badagliaca R, Poscia R, et al. Circulating biomarkers in pulmonary arterial hypertension: update and future direction. The Journal of heart and lung transplantation. 2015; 34: 282- 305.
54. Salazar G, Mayes MD. Genetics, epigenetics and genomics of systemic sclerosis. Rheum Dis Clin N Am. 2015; doi.org/10.1016/j.rdc.
55. Kukreja R, Yin C and Salloum F. MicroRNAs: New players in cardiac injury and protection. Molecular pharmacology. 2011; 80: 558-64.
56. Bienertova-Vasku J, Novak J and Vasku A. MicroRNAs in pulmonary arterial hypertension: pathogenesis, diagnosis and treatment. J Am Soc Hypertens. 2015; 9: 221-34.
57. Meloche J, Pflieger A, Vaillancourt M, et al. miRNAs in PAH: biomarker therapeutic target or both?. Drug Discovery. 2014; 8: 1264- 69.
58. Wei C, et al. Circulating miRNAs a potential marker for pulmonary hypertension. PLoS ONE. 2013; 8:e64396.
59. Adorini L, Giarratana N, Penna G. Pharmacological induction of tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells. Sem Immunol. 2004;16: 127-34.

