



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Instituto Nacional de Cardiología

“Ignacio Chávez”

NIVELES SÉRICOS DE OSTEOPONTINA EN PACIENTES CON  
SÍNDROME DE SUPERPOSICIÓN ENTRE ARTRITIS REUMATOIDE  
Y LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

REUMATOLOGÍA

PRESENTA:

**Dra. Mariana Moreno Ramírez**

Tutor y asesor de tesis

**Dr. Luis Manuel Amezcua Guerra**

Ciudad de México, julio 2016



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.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi madre, por ser mi pilar y mi ejemplo de vida

A mi padre, por ser mi ángel y su alma mi fortaleza

A mi hermano, por su hermosa presencia en mis días

A Geovanni, por ser mi luz y mi amor por siempre

A mi familia de sangre, mi familia política y amigos, por su apoyo incondicional en toda mi carrera, por ser mi guía, mi luz y la bendición de mi vida entera

Dr. Luis Amezcua Guerra, mi admiración y agradecimiento

A mis maestros y compañeros, por la motivación personal y profesional de cada día

**SECRETARIA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA  
IGNACIO CHÁVEZ**

---

**Dr. Juan Verdejo París**  
**Director de Enseñanza del**  
**Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”**

---

**Dr. Luis Manuel Amezcua Guerra**  
**Tutor de Tesis**  
**Profesor Académico del curso de especialización**  
**En Inmunología del Instituto Nacional de Cardiología**  
**“Ignacio Chávez”**

---

**Dr. Manuel Martínez Lavín García Lascuráin**  
**Jefe del departamento de Reumatología**  
**Profesor Académico del curso de especialización**  
**En Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología**  
**“Ignacio Chávez”**

---

**Dra. Mariana Moreno Ramírez**  
**Tesista**  
**Médico residente en la especialidad de Reumatología del**  
**Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”**

## ÍNDICE

I.	<b>Introducción</b> .....	8
II.	<b>Antecedentes</b> .....	12
III.	<b>Planteamiento del problema</b> .....	15
IV.	<b>Justificación</b> .....	15
V.	<b>Pregunta de investigación</b> .....	16
VI.	<b>Hipótesis</b> .....	16
VII.	<b>Objetivos</b> .....	16
VIII.	<b>Metodología</b> .....	17
IX.	<b>Resultados</b> .....	23
X.	<b>Discusión</b> .....	29
XI.	<b>Conclusiones</b> .....	33
XII.	<b>Bibliografía</b> .....	34

## RESUMEN

### Niveles séricos de osteopontina en pacientes con síndrome de superposición entre artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico

#### Introducción

La osteopontina, una glicoproteína fijadora de integrinas con actividades paracrina y autocrina. De manera reciente implicada en las enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide. Hasta el momento se desconoce si la osteopontina está implicada en la fisiopatología del lupus.

#### Objetivo

Determinar si existe diferencia en los niveles de osteopontina en pacientes con diagnóstico de lupus en comparación a controles sanos.

#### Métodos

La comparación entre los grupos fue medida usando el test de Kruskal-Wallis, las comparaciones subsecuentes se realizaron con post-prueba de Dunn. Se consideró una  $p$  significativa con valor  $<0.05$ .

#### Resultados

Se encontraron niveles muy altos de osteopontina en los pacientes con lupus de  $5498 (\pm 379)$  pg/ml en comparación al grupo de control sanos ( $222 \pm 289$  pg/ml) con  $p = < 0.001$ . No hubo diferencia estadísticamente significativa al comparar los niveles de osteopontina entre lupus, lupus eritematoso y artritis reumatoide.

#### Conclusiones

Hasta la fecha no existe ningún estudio que vincule la elevación de la osteopontina con la fisiopatología del lupus, se necesitan de mayores estudios para conocer por entero su responsabilidad en las enfermedades autoinmunes y poder ofrecer así un blanco de tratamiento.

## **ABSTRACT**

### **Serum levels of osteopontin in patients with rheumatoid arthritis among overlap syndrome and systemic lupus erythematosus**

#### **Introduction**

Osteopontin is an integrin binding glycoprotein, with paracrine and autocrine activities. Recently, it has been implicated in autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. Until now, it is unclear if osteopontin plays a role in the pathogenesis of rhusus.

#### **Objective**

To determine if there is any difference in the levels of osteopontin between patients with rhusus and healthy controls.

#### **Methods**

We used Kruskal-Wallis test to compare the groups; the subsequent comparisons were made with the Dunn post-test, with a P value of less than 0.05 indicating statistical significance

#### **Results**

We found higher levels of osteopontin in rhusus patients, 5498 ( $\pm$ 379) pg/ml, than in healthy controls, (222  $\pm$  289 pg/ml), with a  $p = < 0.001$ . There was no statistical difference between levels of osteopontin in patients with rhusus, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.

#### **Conclusions**

Until this paper was written, there was no published study that links the elevation of osteopontin with rhusus pathogenesis. We need more information about this respect, to consider this glycoprotein as a target in the treatment of autoimmune diseases.



# **Niveles séricos de osteopontina en pacientes con síndrome de superposición entre artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico**

## **I. INTRODUCCIÓN**

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad crónica e inmune que afecta la mayor parte de los órganos y tejidos, con un curso impredecible. A nivel sistémico, tanto el sistema inmune innato y adaptativo contribuyen al desarrollo de la enfermedad, comprometiendo varios tipos de células. El estrés oxidativo, infecciones, o en general el daño del tejido causan una muerte celular masiva. Muchos procesos como la apoptosis, necrosis, o NETosis (formación de trampas extracelulares de neutrófilos) pueden ocurrir solos o en combinación. Si la limpieza de células muertas es deficiente, los detritus celulares se acumulan y resultan en un desencadenante de inflamación por los antígenos nucleares y citoplasmáticos liberados; como por ejemplo ribonucleoproteínas, DNA, histonas, et c. Los remanentes celulares de los centros germinales en órganos linfoides secundarios que no han sido eliminados resultan en la presentación de autoantígenos por las células dendríticas a células B auto reactivas generadas durante el proceso de hipermutación somática (pérdida de la tolerancia periférica).

La exposición de antígenos nucleares en esta delicada localización es secundaria a la pérdida de tolerancia de dichos antígenos. La subsecuente producción de autoanticuerpos juegan un rol crítico en la formación de complejos inmunes que se

depositan en diversos tejidos, de manera alternativa dichos complejos pueden ser formados in situ de diferentes maneras (Podolska, 2015)

La artritis reumatoide (AR) es una afección multisistémica manifestada como una poliartritis destructiva (aunque no en todos los casos), caracterizándose por una sinovitis persistente y progresiva de articulaciones periféricas, causando destrucción del cartílago y del hueso subcondral. La base de la patogénesis es la respuesta contra antígenos hasta el momento no bien definidos. Los dos eventos mejor caracterizados son (1) hiperplasia sinovial, (2) infiltración mononuclear de la subintima. La hiperplasia es compuesta por sinoviocitos tipo I (células similares a macrófagos) y sinoviocitos tipo II (células similares a fibroblastos). También han sido detectados muchos otros tipos celulares (además de los ya comentados) como parte de este infiltrado. Otro de los hallazgos patológicos y distintivos es la formación de pannus, un tipo de tejido destructivo entre el hueso y el cartílago. La sinovitis crónica de manera eventual progresa a la destrucción de hueso adyacente causando deformidad y discapacidad. (Walsh, 2014).

La artritis es una manifestación clínica muy común en las diversas enfermedades autoinmunes. Hasta el 90% de los pacientes con lupus tienen involucro articular, siendo generalmente no erosiva. De manera muy particular y poco frecuente (1-5%) se desarrolla una superposición con artritis reumatoide, conocida como rupus (Liu, 2014) (Tani, 2013).

Ha sido un tema de debate por muchos años, las primeras descripciones sucedieron en 1960, cuando Toone y colaboradores describieron la presencia de células LE en el suero de 15 pacientes con artritis reumatoide, fue hasta el año de 1975 cuando se utiliza

por primera vez el término de *lupus*. Desde la primera descripción del término existen dificultades para identificar a estos pacientes dada la falta de parámetros claros que definan esta entidad. Simón et al estudiaron a un grupo de 1500 pacientes con LES y 2000 pacientes con AR, identificando que 116 presentaban ambos diagnósticos; sin embargo solo 22 de ellos tenía evidencia suficiente para sostener el diagnóstico de *lupus*. Estos autores lo definieron como una poliartritis simétrica erosiva, acompañada de signos y síntomas de *lupus* eritematoso y la presencia de autoanticuerpos con alta especificidad (anti-DNAc o anti-Sm). Estos pacientes se presentan con artritis reumatoide, desarrollando posteriormente características de *lupus* eritematoso, pocos lo hacen de forma simultánea y menos aún con *lupus* como manifestación inicial. El diagnóstico de artritis reumatoide precedió al de *lupus* eritematoso un promedio de 7.7 años (Simón, 2012)

Lo reportado por Amezcua-Guerra y Simón, fue un lapso de 4 años, con solo un paciente con diagnóstico de LES al inicio, agregándose en los demás a los 4 años una poliartritis persistente, bilateral simétrica, erosiva y seropositiva. (Amezcua-Guerra, 2009)

La evolución de los métodos diagnósticos permitió el análisis de las moléculas HLA-DR, si bien este campo aún necesita más investigación, se observó que los pacientes con *lupus* se distinguían por la presencia de alelos HLA-DR4, DR2, DR6 y DR1

En la actualidad existen tres marcadores serológicos que están presentes en el suero de pacientes con artritis reumatoide pero no de *lupus* eritematosos sistémico, encontrado grandes diferencias en ambas enfermedades; anti-PCC (anticuerpos anti-

péptido cíclico citrulinado), epítipo compartido y proteína C reactiva. Los tres han sido en su mayoría encontrados de forma similar y relacionados al cuadro clínico de artritis reumatoide y en su superposición con lupus; que en aquellos pacientes que solo tienen diagnóstico de lupus eritematoso (Murat, 2009)

Amezcu-Guerra y colaboradores identificaron que los anticuerpos anti-peptido cíclico citrulinado (anti-CCP) están presentes con similar frecuencia en reupus y artritis reumatoide, pero significativamente más altos que en los pacientes con LES y artropatía no erosiva, dicho autor también reporto que los pacientes con reupus tienen una concentración sérica de proteína C reactiva (PCR) significativamente mayor que lo encontrado en LES con artritis no erosiva, sugiriendo a la proteína C reactiva como un marcador serológico de artritis erosiva en LES, que pueden apoyar el diagnóstico. (Amezcu-Guerra, 2006) (Amezcu-Guerra, 2008)

Hasta la fecha no se conoce con exactitud la patogénesis de reupus. Es ampliamente conocido que los linfocitos TCD4+ y sus subtipos tienen un papel primordial en la artritis reumatoide y lupus. De forma general de ha demostrado que la artritis reumatoide es mediada por TCD4+ subtipo TH1 y TH17, en los pacientes con lupus eritematoso se ha encontrado una polarización hacia TH2, sin embargo en diversos estudios se ha demostrado la elevación persistente de TH17 y su correlación con manifestaciones en piel, riñón y SNC (Bengtsson, 2016).

Se cree que el lupus, al ser la conjunción de ambas patologías, las tres vías de polarización son responsables de las características clínicas y serológicas de estos pacientes.

## II. ANTECEDENTES

En los últimos años y con los avances tecnológicos se ha descrito a la osteopontina, una glicoproteína fosforilada de unión a integrinas, como un regulador inmune atípico. Conocida también como activador temprano del linfocito 1 (ETA-1) y originalmente descrita como la proteína no colágena más importante de hueso, demostrándose años posteriores una mayor distribución en médula ósea, células epiteliales, leche, orina, sangre, lágrimas. Es sintetizada por diversas células como linfocitos B y T, células asesinas naturales. De forma particular aumentada en los sitios de inflamación y remodelación tisular y a que a parte de encontrarse como componente de la matriz extracelular, se acepta ya como una citocina soluble (Lund, 2009)

La función descrita inicialmente fue la de unirse a hidroxapatita y evitar su precipitación en hueso. Posteriormente se descubrió que media diversos procesos fisiológicos, entre los que se encuentran la protección contra patógenos intracelulares y otros microorganismos como rotavirus, virus herpes simple, listeria y plasmodium (Shinohara, 2009) describiéndose también en la patogénesis de la aterosclerosis, glomerulonefritis y se ha demostrado su relación con las recaídas y remisiones de la esclerosis múltiple, con el aumento de TH17 en pacientes con enfisema pulmonar, en

enfermedades hepáticas principalmente hepatitis por alcohol, sus niveles plasmáticos correlacionan con enfermedad inflamatoria intestinal y aneurismas aórticos abdominales, así mismo se sabe que juega un papel prominente en la metástasis por cáncer ( Afify, 2009 )Pertenece a la familia SIBLING ( ligandos pequeños de unión a integrinas), contiene sitios de unión a calcio y dominios de unión a heparina, interactúa con diversos tipos celulares a través de su mecanismo de acción más conocido; la unión a integrinas ( $\alpha\beta3$  la más famosa), previa escisión del C-terminal por la trombina, eliminando así el efecto inhibitorio que ejerce sobre ella. La bioactividad de la osteopontina depende de la escisión por trombina y metaloproteinasas, induciendo migración y adhesión a través de integrinas (Lund, 2009).

Es objeto de muchas modificaciones post- traslacionales incluyendo fosforilación serina y treonina (tiene 36 sitios de fosforilación) y esto depende del tejido en el que se encuentre Es un regulador de polarización hacia TH1 y TH17 así como supresor de TH2. Adicionalmente se ha descrito su interacción con CD44, un receptor de ácido hialurónico en osteoclastos, dicha unión se ha descrito como inhibidora de IL-10 (inhibición de la polarización a TH2). Es un promotor de numerosos sitios de unión de factores de transcripción, de manera reciente se ha identificado una forma intracelular que introduce nuevas dimensiones a la biología de esta proteína. La interacción de la osteopontina con MyD88 activa el factor transcripción IRF7 e induce la polarización a TH1, activando también el factor de transcripción NF- $\kappa$ B que induce la expresión de TNF-alfa e IL-6. La osteopontina favorece la polarización TH17 al suprimir IL-27, otras

vías descritas ha sido a través de CD44 Y CD29 así como el factor de transcripción ROR (Shinohara, 2009)

Regula el sistema inmune a diferentes niveles, además de la ya comentada polarización. Se encuentra elevada dramáticamente durante la diferenciación de macrófagos y es también secretada por estas mismas células, inducida a su vez por diversas citocinas como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IFN- $\gamma$  y IL-6. Es entonces una molécula importante para la supervivencia, migración, quimioatracción y fagocitosis de los macrófagos. El déficit de la acumulación de macrófagos ha sido inducido en ratones a quienes se les ha suprimido osteopontina, sugiriendo así ser un importante promotor de estas células. Se le conocen funciones antiinflamatorias en macrófagos, suprimiendo la expresión de iNOS y reduciendo los radicales libres (Tsai, 2005) (Weber, 2002)

También sus efectos en las células T han sido documentados. Shinohara et al, demostró que la expresión del gen de osteopontina en células T es controlado por T-bet (unión a TLR-9), favoreciendo así la respuesta TH1. (Shinohara, 2005)

Dadas las funciones anteriores se ha visto involucrada en enfermedades autoinmunes, los mayores estudios abarcan a los pacientes con artritis reumatoide y lupus, al favorecer la respuesta TH1 y Th17, así como diversas funciones en células de la inmunidad innata y adaptativa, haciéndolas más eficaces. (Shinohara, 2005)

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La patogénesis de lupus ha permanecido prácticamente desconocida, debido a la baja prevalencia de la enfermedad. Se han encontrado diferencias clínicas y similitudes en estudios de laboratorio y cuadro clínico de pacientes con lupus, artritis reumatoide y lupus.

Se sabe que la osteopontina, una glicoproteína de unión a integrinas, está involucrada en la fisiopatología de pacientes con lupus eritematoso y artritis reumatoide, siendo entonces el lupus una conjunción de ambas patologías se espera que los niveles de osteopontina se encuentren elevados.

### **IV. JUSTIFICACIÓN**

Conocer más acerca de la fisiopatología del lupus, dado que su baja prevalencia no ha permitido su estudio amplio. Esto con el fin de buscar posibles blancos terapéuticos y ofrecer así una mejor calidad de vida.

Hasta el día de hoy no existen estudios que relacionen la osteopontina con la fisiopatología del lupus.



## V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los pacientes con r upus tienen mayores niveles de osteopontina respecto a los controles sanos?

## VI. HIPÓTESIS

**Hipótesis alterna:** existe diferencia en los niveles de osteopontina en pacientes con r upus en comparación a controles sanos

**Hipótesis nula:** no existe diferencia en los niveles de osteopontina en pacientes con r upus en comparación a controles sanos

## VII. OBJETIVOS

**Objetivo primario:** determinar si existe diferencia en los niveles de osteopontina en pacientes con diagnóstico de r upus en comparación a controles sanos

### **Objetivos secundarios:**

- Determinar si existe diferencia en los niveles de osteopontina en pacientes con diagnóstico de lupus en comparación a pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso y artritis reumatoide
- Determinar si existe diferencia en los niveles de IL28-B e IL28-A en pacientes con diagnóstico de lupus, artritis reumatoide, lupus y controles sanos.

## **VIII. METODOLOGÍA**

### **Diseño del estudio**

Estudio transversal, comparativo y analítico

### **Descripción de la población de estudio**

Pacientes ambulatorios con diagnóstico confirmado de lupus eritematoso sistémico, lupus, artritis reumatoide y controles sanos subsiguientes a la consulta externa del departamento de reumatología del Instituto Nacional de Cardiología, Dr. Ignacio Chávez

## **Criterios de inclusión**

**Grupo con lupus eritematoso sistémico:** pacientes que reunieron los criterios de clasificación de SLICC SLE 2012 y que no tuviera superposición con artritis reumatoide.

**Grupo con lupus:** pacientes que reunieron los criterios de clasificación de SLICC SLE del 2012 y que además reunieran los criterios de clasificación ACR/EULAR 2010 para artritis reumatoide. Además de manifestaciones clínicas robustas de lupus eritematoso sistémico (afección renal o del sistema nervioso central y/o manifestaciones serológicas específicas (anti-DNAc y anti-Sm) así como erosiones demostradas por radiografías convencionales de manos y pies.

**Grupo con artritis reumatoide:** pacientes que reunieran los criterios de ACR/EULAR 2010 para artritis reumatoide.

## **Criterios de exclusión**

Pacientes que no reunieran criterios de clasificación, así como aquellos con infecciones crónicas o activas y neoplasias

## **Especificación de variables**

Edad

Genero

Tiempo de evolución

Índices de actividad: DAS28-PCR 3, SLEDAI-2K

Diagnóstico de lupus, lupus eritematoso, artritis reumatoide

Factor reumatoide

Anti-PCC

Anticuerpos antinucleares con especificidades

Osteopontina

IL-28B

Interferón gama

Interferón alfa

## **Técnica de recolección de datos y muestras**

Durante un periodo de 6 meses (enero-junio 2016) se recolectaron muestras para un protocolo autorizado con número de registro 16-960 que lleva por título "Prevalencia

del síndrome de QT en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico y Síndrome de Sjögren”.

Se eligieron únicamente aquellas muestras de pacientes que cumplieran con los criterios de clasificación para Lupus, artritis reumatoide y r upus, así como de controles sanos.

Fueron tomados 5 ml de sangre venosa, 10-12 horas posteriores se realizaron las lecturas de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia con células H Ep-2 así como de anti-DNAc con sustrato de *Crithidia luciliae* (Inova Diagnostics, San Diego, CA, USA). Anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, anti-Sm, anti-RNP, anti-DNA (Inova Diagnostics), fueron determinadas por ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA). Otros estudios como biometría hemática, nitrógeno ureico en sangre, creatinina, recolección de orina de 24 horas y depuración de creatinina de 24 horas fueron realizados tres días previos a la inclusión del estudio principal.

De manera adicional se tomaron 5 ml de sangre periférica de cada individuo, centrifugándose (600 g por 15 minutos a 4° C), al macenándose en alícuotas a -70°C hasta su uso.

Posteriormente los sueros se descongelaron en condiciones estándar, se realizó la medición de citocinas por ELISA. Se realizó la medición de IL28B por ELISA usando el DuoSet (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). INF- alfa fue medido por el kit ELISA (PBL Interferon Source, Piscataway, NJ, USA). La medición de osteopontina sérica fue el por el proceso de ELISA ((R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Todos los procedimientos fueron realizados acorde a los instructivos de cada uno de los paquetes.

Durante el periodo de estudio se realizó la recolección de características demográficas basales así como de manifestaciones clínicas, que fueron definidas de la siguiente manera: artritis:  $\geq 2$  articulaciones con dolor e inflamación ó derrame confirmado por examen físico. Involucro renal:  $\geq 0.5$  g/24 h de proteínas urinarias,  $< 50\%$  tasa de filtrado glomerular,  $> 5$  leucocitos o eritrocitos por campo en una muestra de orina, o cristales urinarios. Involucro mucocutáneo: eritema malar, alopecia difusa o en parches, úlceras orales o nasales, fotosensibilidad o lesiones discoides. Involucro neuropsiquiátrico: convulsiones, psicosis no asociada al uso de glucocorticoides, estado confusional agudo, migraña, neuropatía craneal, deterioro cognitivo, mielitis transversa. Vasculitis: ulceración, gangrena, evidencia de infartos periungueales o hemorragias en astilla con el uso de dermatoscopio de luz polarizada (3Gen, San Juan Capistrano, CA, USA). Serositis: frote pleural o pericárdico y derrame confirmado por radiografía de tórax o ecocardiografía, respectivamente. La duración de la enfermedad fue calculada de diagnóstico a la inclusión de estudio. El índice de actividad de lupus eritematoso sistémico 2000 (SLEDAI-2K) con un lapso de 10 días previos de medición previo a la evaluación, fue usado como índice de actividad (Gladman,2000).

Para el índice de actividad en pacientes con artritis reumatoide se utilizó el DAS28-PCR 3 (Goekoop-Ruiterman, 2010). Se utilizó el de tres parámetros (conteo de articulaciones dolorosas e inflamadas, así como niveles de PCR) sin tomar en cuenta el estado global del paciente.

### Análisis estadístico

Las variables continuas fueron expresadas en medias con desviación estándar. La comparación entre los grupos fue medida usando el test de Kruskal-Wallis, las comparaciones subsecuentes se realizaron con post-prueba de Dunn. Se consideró una p significativa con valor  $<0.05$ . El análisis estadístico fue realizado con Graph Pad Prism versión 4.02 (Graph Pad Software, San Diego, CA, USA)

### Cronograma de actividades

	Enero-Marzo 2016	Abril 2016	Mayo 2016	Junio-Julio 2016
Elaboración de documento y recolección de Bibliografía				
Recolección de Datos				
Análisis de Datos				
Presentación de Resultados				

## IX. RESULTADOS

Se analizaron un total de 35 pacientes, nueve pacientes para el grupo de lupus, nueve pacientes para el grupo de lupus eritematoso, 8 pacientes para el grupo de artritis reumatoide y 9 pacientes sanos. Características demográficas basales similares.

En su mayoría del género femenino, constituyendo el 88% de pacientes con lupus, 100% de pacientes con lupus eritematoso, 87% en grupo de artritis reumatoide y 55% en grupo de sanos. La edad promedio de presentación fue de 49 años ( $\pm 10$ ) en lupus, 37 años ( $\pm 12$ ) para lupus eritematoso sistémico y 49 años ( $\pm 10$ ) en pacientes con artritis reumatoide (Ver tabla 1)

**Tabla 1. Características demográficas**

Características demográficas	Pacientes con Lupus (9)	Pacientes con LES (9)	Pacientes con AR (8)	Sanos (9)
Mujeres	8 (88%)	9 (100%)	7 (87%)	5 (55%)
Edad (años)	49 ( $\pm 10$ )	37 ( $\pm 12$ )	49 ( $\pm 10$ )	32 ( $\pm 3$ )
Años de evolución	13 ( $\pm 8$ )	5.9 ( $\pm 4$ )	10 ( $\pm 6$ )	-
SLEDAI-2K	1.8 ( $\pm 2$ )	0.8 ( $\pm 2$ )	-	-
DAS28-PCR 3	2.06 ( $\pm 0$ )	-	3.42 ( $\pm 1.98$ )	-



Los años de evolución fueron diferentes en los tres grupos, siendo mayor para los pacientes con lupus y artritis reumatoide; 13 ( $\pm 8$ ) y 10 ( $\pm 6$ ) años respectivamente. Los pacientes en el grupo de lupus eritematoso tienen menor tiempo evolución a diferencia de los anteriores antes mencionados.

La actividad de artritis medida por DAS-28 P CR-3 fue mayor en el grupo de pacientes con artritis reumatoide que en el grupo de lupus, siendo 3.42 ( $\pm 1.98$ ) vs 2.06 ( $\pm 0$ ) respectivamente. La actividad medida por SLEDAI-2K fue similar en los pacientes con lupus y lupus eritematoso sistémico; (1.8 ( $\pm 2$ ) vs 0.8 ( $\pm 2$ ), respectivamente.

Únicamente el 25% de los pacientes tuvieron positividad para anticuerpos-antinucleares (aunque no se midieron en todos ellos). El factor reumatoide fue positivo en el grupo de lupus y artritis reumatoide en casi el 100% de los casos, en ninguno de los pacientes con lupus resultó positivo. Los anti-PCC son positivos en el 100% de los casos con lupus y en ningún paciente con lupus, por supuesto; los pacientes con artritis reumatoide tenían una seropositividad para éste anticuerpo fue del 87.5%. El resto de los anticuerpos están detallados en la Tabla 2

**Tabla 2. Características serológicas**

Características serológicas	Pacientes con Rupus (9)	Pacientes con LES (9)	Pacientes con AR (8)	Sanos (9)
Antinucleares	100% (9/9)	100% (9/9)	25% (2/8)	-
Anti-nucleosomas	100% (6/6)	83 % (5/6)	-	-
Anti-DNA Crithidia luciliae	44% (4/9)	66% (6/9)	-	-
Anti-DNA <sub>dc</sub> ELISA	40% (2/5)	33% (2/6)	-	-
Anti- Smith	0% (0/6)	57% (4/7)	-	-
Factor reumatoide	88% (8/9)	0% (0/9)	87.5% (7/8)	-
Anti- péptido cíclico citrulinado	100% (9/9)	0% (0/9)	83% (5/6)	-
Anti-SSA	57% (4/7)	42% (3/7)	-	-
Anti-SSB	28% (2/7)	0% (0/7)	-	-
Anti-RNP	16% (1/6)	57% (4/7)	-	-

En los pacientes con rupus predominaron las manifestaciones cutáneas, renales y articulares ( 44% cada una de ellas), en este mismo grupo de pacientes no se reportaron manifestaciones neurológicas o cardíacas (ver Tabla 3). En los pacientes con

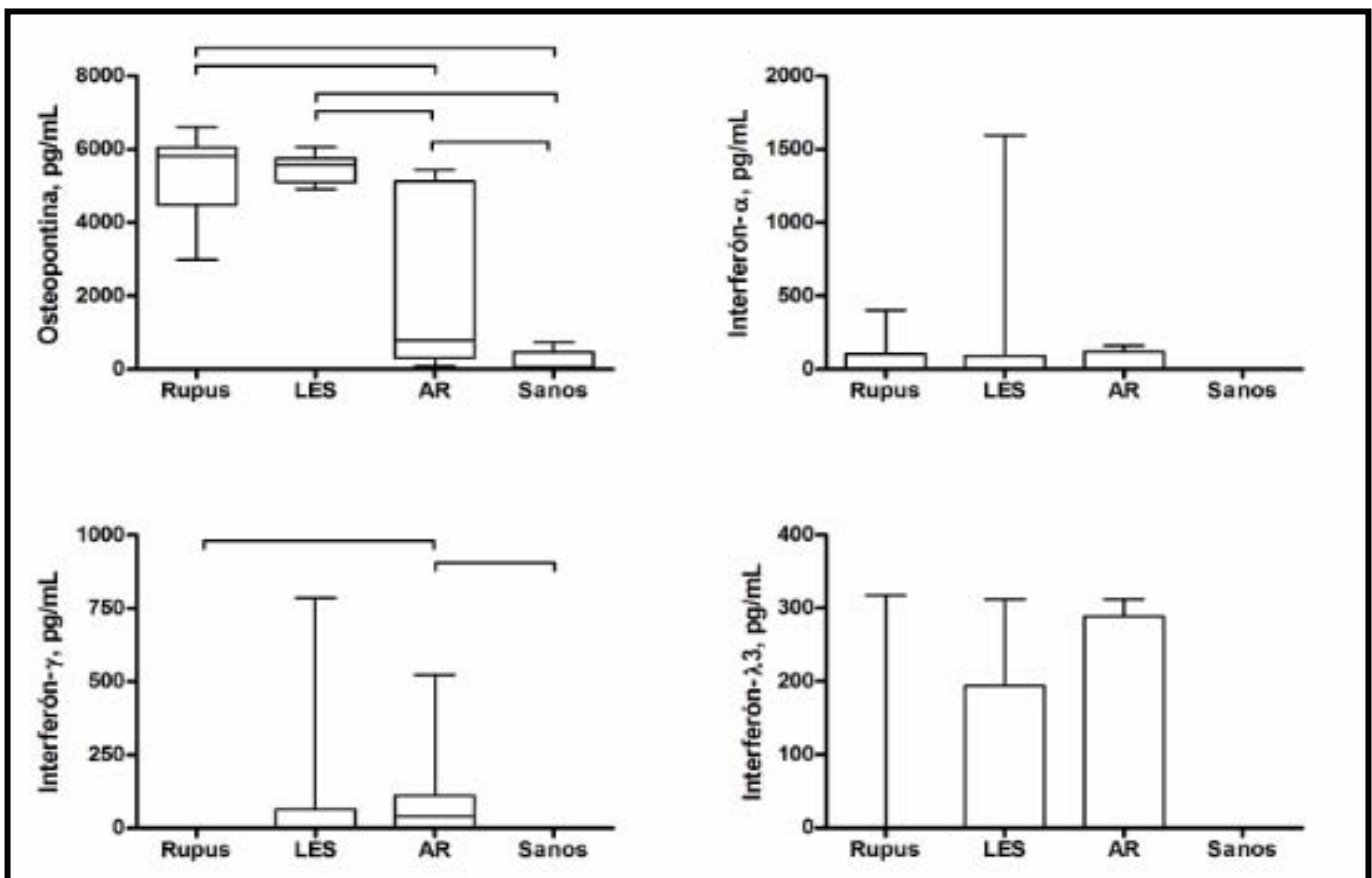
lupus las manifestaciones predominantes fueron renales, mucocutáneas, hematológicas y articulares (ver Tabla 3)

**Tabla 3. Características clínicas**

<b>Manifestaciones clínicas</b>	<b>Rupus (9)</b>	<b>LES (9)</b>	<b>Artritis reumatoide (8)</b>
<b>Sjögren</b>	3 (33%)	2 (22%)	1 (12.5%)
<b>SAF</b>	1 (11%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Nefropatía</b>	4 (44%)	6 (66%)	0 (0%)
<b>Artritis</b>	4 (44%)	5 (55%)	8 (100%)
<b>Mucocutáneas</b>	4 (44%)	8 (88%)	0 (0%)
<b>Hematológicas</b>	3 (22%)	6 (66%)	1 (12.5%)
<b>Neurológicas</b>	0 (0%)	1 (11%)	0 (0%)
<b>HAP</b>	1 (11%)	0 (0%)	1 (12.5%)
<b>Cardiacas</b>	0 (0%)	1 (11%)	2 (25%)
<b>Pulmonares</b>	1 (11%)	0 (0%)	0 (0%)

Los niveles de osteopontina fueron medidos con las técnicas mencionadas anteriormente, de forma general fueron mayores en los pacientes con rupus y lupus, con una media de 5498 ( $\pm 379$ ) pg/ml y 5316 ( $\pm 1169$ ) pg/ml respectivamente y una  $p > 0.05$  entre ellos. Se encontró significancia estadística entre los pacientes con lupus y rupus a comparación de los sanos ( $222 \pm 289$  pg/ml) y ninguna diferencia con los pacientes de artritis reumatoide (ver Tabla 4) (ver Figura 1)

**Figura 1. Niveles de osteopontina e interferones**



**Tabla 4. Comparación múltiple de niveles de osteopontina. Prueba múltiple de Dunn**

<b>Rupus vs lupus eritematoso</b>	<b>p = &gt; 0.05</b>
<b>Rupus vs artritis reumatoide</b>	<b>p = 0 &gt; 0.05</b>
<b>Rupus vs sanos</b>	<b>p = &lt; 0.001**</b>
<b>Lupus eritematoso vs artritis reumatoide</b>	<b>p = &gt; 0.05</b>
<b>Lupus vs sanos</b>	<b>p = &lt; 0.001**</b>
<b>Artritis reumatoide vs sanos</b>	<b>p = &gt; 0.05</b>

De manera secundaria en nuestros pacientes y como parte del protocolo anexo, se midieron interferones.

El interferón gama fue detectado en pacientes con lupus eritematoso ( $101 \pm 257$  pg/ml) y artritis reumatoide ( $103 \pm 176$  pg/ml), no hubo niveles detectables en pacientes con lupus y sanos.

IL-28B se encontró en mayores cantidades en pacientes con lupus eritematoso y artritis reumatoide ( $77 \pm 125$  pg/ml) que en pacientes con lupus. No se detectó ninguna cantidad en gente sana.

Los niveles de interferón alfa fueron mayores en pacientes con lupus ( $67 \pm 141$  pg/ml) y lupus eritematoso ( $197 \pm 525$  pg/ml). Los niveles en pacientes con artritis reumatoide fueron menores ( $39 \pm 68$  pg/ml)

## **X. DISCUSIÓN**

Los pacientes con lupus y lupus tuvieron mayores niveles de osteopontina respecto a los pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide y controles sanos. Dicho resultado fue acorde a las investigaciones previas acerca de lupus eritematoso y artritis reumatoide, demostrando en esta pequeña muestra de pacientes con lupus su elevación considerablemente mayor a las personas sanas, sugiriendo su participación en la fisiopatología del lupus, que hasta el día de hoy es prácticamente desconocida.

Se ha demostrado que la osteopontina induce la activación de linfocitos B y la producción de IgG/IgM, anticuerpos (particularmente anti-DNAc) favoreciendo la expresión de TNF-alfa, IFN-gama, IL-1b, INF-alfa, sabemos que dichas citocinas están implicadas en la fisiopatología del lupus (Iizuka,1998) y que es altamente probable se encuentren alteradas en pacientes con lupus, dirigiendo parte de la disfunción inmune.

El primer reporte en humanos que sugirió la conexión entre osteopontina y autoinmunidad fue en 1989. Wong y colaboradores midieron la concentración de osteopontina de 54 pacientes chinos, la diferencia entre los que no tenía nefropatía y los que sí, fue significativa; correlacionando positivamente con la actividad renal ( $p < 0.001$ ) y SLEDAI así como de IL-18, sugiriendo que las acciones proinflamatorias de la citocina junto con la osteopontina favorecen la respuesta TH1. (Wong CK, 2005)

No encontramos correlación entre el SLEDAI-2K ni tampoco en las diversas manifestaciones clínicas, muy probablemente por la pequeña muestra de pacientes con lupus eritematoso sistémico, no podemos afirmar que la osteopontina se correlacione o no con la actividad del lupus

Yaip y colaboradores demostraron la estrecha relación de IL-18 con los niveles de osteopontina. La IL-18 ejerce una variedad de efectos en células

dendríticas, linfocitos T, células asesinas naturales; entre ellos ser un inductor de interferón alfa y polarización TH1. (Yan DY, 2013)

Años previos a Yaip, Wong y colaboradores sugirieron que la osteopontina juntos con la actividad de IL-18, refuerza la respuesta TH1 causando exacerbación del cuadro clínico de lupus eritematoso (Wong CK, 2005)

Rullo y colaboradores han sugerido a la osteopontina como un marcador de mal pronóstico que precede y correlaciona con el daño orgánico acumulado (SLICC/ACR/SDI), dado el rol crítico que juega a través de INF- $\alpha$  tanto en niños como en adultos (Rullo OJ, 2013)

Para los pacientes con artritis reumatoide los mecanismos descritos incluyen reclutamiento de células inflamatorias y producción de citocinas en los fibroblastos sinoviales y macrófagos, a través de unión a integrinas. En nuestro estudio no se encontró correlación con el índice de actividad y los niveles de osteopontina en sangre, como se ha reportado con anterioridad.

Boumans y colaboradores probaron un anticuerpo llamado anti- OPN SVVYGLR en pacientes con AR, no mostrando efectividad, aunque fue muy bien tolerado (Boumans MJH, 2012)

Podemos afirmar que al igual que en lupus, la osteopontina se encuentra alterada en los pacientes con lupus, muy probablemente tenga un papel importante en la fisiopatología de la enfermedad dado todas las vías en las que es capaz de



modular el sistema inmune. Hacen falta mayores estudios para concluir un papel primordial y que sea desarrollen tratamientos específicos. Hasta el momento el mayor campo de estudio de la osteopontina es en cáncer y su relación con la propagación de metástasis

En modelos animales se ha visto un aumento en la producción de interferón alfa por parte de las células dendríticas en ratones con sobreexpresión de osteopontina. Los ratones con déficit de expresión de osteopontina tuvieron defecto en TLR-9 y en la translocación nuclear de IRF7 con la consiguiente disminución de interferón alfa. (Shinohara, 2006)

Avances recientes han demostrado las implicaciones directas de la familia de los interferones en la fisiopatología de lupus eritematoso, artritis reumatoide y la superposición de ambas. Contribuyen a la diferenciación de monocitos a células dendríticas con propiedades de ser presentadoras de antígeno muy eficaces, regulando también la respuesta de los linfocitos B (Lauwerys, 2014)

Se detectaron niveles de los tres tipos de interferones en pacientes con lupus eritematoso, artritis reumatoide y lupus. En nuestro estudio ningún paciente sano tuvo niveles detectables. La dificultad para detectar niveles de interferón ha sido reportada en diversos estudios, por lo que hasta la fecha se prefieren los estudios genéticos.

Es indudable el papel tan importante que juega la familia de los interferones en el lupus sistémico, y por supuesto en el síndrome de superposición con artritis reumatoide

## **XI. CONCLUSIONES**

La osteopontina, una proteína pleiotrópica con expresión elevada en varios tipos de células, participando de manera activa en la regulación del sistema inmune. Un gran número de publicaciones sugieren la participación de la osteopontina en diversas enfermedades autoinmunes, incluyendo lupus eritematoso sistémico, asociándose con algunas manifestaciones clínicas y niveles de actividad. Misma situación se repite en los pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide, en donde los estudios son más amplios y los resultados aún más divergentes. El síndrome de superposición de lupus eritematoso y artritis reumatoide constituye una entidad bien demostrada, se sabe que las vías que implicadas en éstas enfermedades convergen en el lupus. Hasta la fecha no existe ningún estudio que vincule la elevación de la osteopontina con la fisiopatología del lupus, se necesitan de mayores estudios para conocer por entero su responsabilidad en las enfermedades autoinmunes y poder ofrecer así un blanco de tratamiento que mejore la calidad de vida y en su defecto disminuya la mortalidad

## XII. BIBLIOGRAFÍA

Afify MF, Mohamed GB, El-Maboud MA. Plasma concentration of osteopontin (OPN) in children with systemic lupus erythematosus: relationship with disease activity. *Open Autoimmun J.* 2009; 1:59–63

Amezcu-Guerra LM, Springal R, Márquez-Velasco R, Gómez-García L, Vargas A, Bojalil R. Presence of antibodies against cyclic citrullinated peptides in patients with “rhus”: a cross-sectional study. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:R144

Amezcu-Guerra LM, Márquez-Velasco R, Bojalil R. Erosive arthritis in systemic lupus erythematosus is associated with high serum C-reactive protein and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. *Inflamm Res.* 2008;57:555-7

Amezcu-Guerra LM. Overlap between systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: Is real or just an illusion?. *J Rheumatol.* 2009;36:4-6

Bengtsson AA, Rönnblom L. Systemic lupus erythematosus: still a challenge for physicians. *J Intern Med.* 2016; doi: 10.1111/joim.12529

Boumans MJH, Houbiers JGA, Verschueren P, Ishikura H, Westhovens R, Brouwer E, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, pharmacodynamics and efficacy of the

monoclonal antibody ASK8007 blocking osteopontin in patients with rheumatoid arthritis: a randomised, placebo controlled, proof-of-concept study *Ann Rheum Dis* 2012;71:180-5

Gladman DD, Ibáñez D, Urowitz MB. Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol* 2002;29:288-91

Goekoop-Ruiterman Y P, de Vries-Bouwstra J K, Kerstens P J, Nielen M M, Vos K, van Schaardenburg D, Speyer I, Seys PE, Breedveld FC, Allaart CF, Dijkmans BA DAS-driven therapy versus routine care in patients with recent-onset active rheumatoid arthritis.. *Ann Rheum Dis* 2010;69(1):65-9

Iizuka J, Katagiri Y, Tada N. Introduction of an osteopontin gene confers the increase in B1 cell population and the production of anti-DNA autoantibodies. *Lab Invest* 1998;78:1523–33)

Kaleta B. Role of Osteopontin in Systemic Lupus Erythematosus. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2014;62:475–82

Lauwerys B R, Ducreux J, Housiau FA. Type I interferon blockade in systemic lupus erythematosus: where do we stand? *Rheumatology (Oxford)* 2014;53:1369-76.

Liu T, Li G, Mu R, Ye H, Li W, Li Z. Clinical and laboratory profiles of lupus syndrome in Chinese population: a single center study of 51 patients. *Lupus*.2014;23:958-63

Lund SA, Giachelli CM, Scatena M. The role of osteopontin in inflammatory processes. *J Cell Commun Signal*.2009;3:311-22

Murat I cen, P aulo J . N icola,Hilal M aradit-Kremers, C ynthia S . C rowson, T erry M . Therneau, et al. *PhD J Rheumato* 2009;1:50-7.

Podolska M, Biermann M, Maueröder C, Hahn J, Herrmann M. *J inflamm*. 2015; 8:161–71

Rittling SR, Singh R. Osteopontin in Immune-mediated Diseases. SR Rittling. *J Dent Res*. 2015;12:1638-45

Rullo OJ, Woo MP, Parsa MF, Hoftman DC, Maranian P, Elashoff DA. Plasma levels of osteopontin identify patients at risk for organ damage in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy* 2013, 15:1-12.

Shinohara M L, J ansson M , H wang E S, Werneck M B, G limcher LH , C antor H . T -bet-dependent expression of osteopontin contributes to T cell polarization. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;47:17101–106

Shinohara M L, Lu L, B u J . O steopontin expression is essential for interferon-alpha production by plasmacytoid dendritic cells. *Nat Immuno*.2006; 17:498–506

Shinohara ML, Cantor H. Regulation of T-helper-cell lineage development by osteopontin. *Nat Rev Immunol.* 2009; 2: 137–41

Simon J A, G ranados J , C abiedes J , R uiz M orales J , A lcocer-Varela J . C linical and immunogenetic characterization of Mexican patients with “Rhus”. *Lupus.* 2002;11: 287-92

Tani C, D’Aniello, Delle Seide A, Carli A, Cagnoni M, Carbone M et al. Rhus syndrome: assessment of its prevalence and its clinical and instrumental characteristics in a prospective cohort of 103 SLE patients. *Autoimmun Rev.* 2013;12:537-41)

Tsai AT, Rice J, Scatena M, Liaw L, Ratner BD, Giachelli CM. The role of osteopontin in foreign body giant cell formation. *Biomaterials.* 2005;29:5835–43)

Walsh DA, McWilliams DF. Mechanisms, impact and management of pain in rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2014;10:581-92

Weber G F, Z awaideh S , H ikita S , K umar VA, C antor H , A shkar S . P hosphorylation-dependent interaction of osteopontin with its receptors regulates macrophage migration and activation. *J Leukoc Biol.* 2002; 4:752–61

Wong C K, Lit LC, Tam LS. Elevation of plasma osteopontin concentration is correlated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2005; 44:602–06

Yap D Y, Lai K N. The role of cytokines in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus—from bench to bedside. *Nephrology*. 2013; 18:243–55