



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA.
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN.
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO.**

EVALUACIÓN DE VARIANTES TIPO SNP EN LOS GENES *miR-146Aa*, *miR-196a-2* Y *MIR-499* Y SU RELACIÓN CON LA SUSCEPTIBILIDAD A PRESENTAR MANIFESTACIONES EXTRAARTICULARES EN ARTRITIS REUMATOIDE EN MEXICANOS

PRESENTA

DR. JUAN CARLOS DE LA CRUZ CASTILLEJOS

TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TITULO DE

**ESPECIALISTA EN
REUMATOLOGÍA**

**DRA. ROSA ELDA BARBOSA COBOS
DR JULIAN RAMIREZ BELLO
ASESORES DE TESIS**

**DR. GUSTAVO ESTEBAN LUGO ZAMUDIO
TITULAR DEL CURSO DE REUMATOLOGÍA**

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.

NUMERO DE REGISTRO DE TESIS
HJM 0086/15-R

HOJA DE FIRMAS

TITULAR DE ESEÑANZA
Dr. Carlos Viveros Contreras

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE REUMATOLOGIA
Dr. Gustavo Esteban Lugo Zamudio

ASESORA
Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos

Y al final el amor que tomas es igual al amor que das...

DEDICATORIA

Sumamente cansado pero emocionado...es mi sentir en este momento en donde el protocolo de las buenas costumbres dice, que tengo que escribir algunas palabras, y más que solo eso.....es también mencionar cada uno de los nombres que escribiré, en este momento de la vida, son sumamente importantes y no me atrevería a anteponer a uno por sobre el otro.

Poco ha pasado desde la primera tesis realizada para el término del posgrado en medicina interna, y hoy no me gustaría dejar de dedicarles a todos los que en mayor o menor medida han estado conmigo.

De primera instancia a mis abuelos, Maura, Alberto, María y Francisco, que aun cuando ya no están físicamente con nosotros, los recuerdo muchísimo... y aún en este momento, unas lagrimas recordarlos me hacen brotar. A mi padre...Juan De La Cruz...mi viejo amado... esto también es tuyo. A mis madres hijole no quiero que se pongan celosas..solo mi Bernardita tiene la ventaja por qué me parió, pero mi Cielito y mi Rositano son cosa menor..sientanse orgullosas de esto, las llevo en el corazón (o mejor dicho en mi sistema limbico). Para mis hermanitas mi Gabita y Lupitita...esto va por ustedes y quiero tenerlas cerca siempre. A mis hermanitos Leo y Memo, sigamos estando cerca. A la niña más hermosa que mis ojos hasta el momento han conocido...mi pepis (María Jose), cuando puedas leer esto ojalá te sea una inspiración. No podía dejar de mencionar a mi tío Mario..Que diciendo que mucho del camino hasta ahora recorrido, sobre todo al inicio fue un motor muy importante. A mi tío Leonel...que siempre ha estado cerca de ahí, presto para apoyarme. Al tío Chico y la tía Chole..Gracias por estar siempre pendiente de mí, misma situación para el tío Panchito. A mi Ambar Sofía... esto también te incluye, preciosa. Al resto de mis familiares también siéntanse contagiados de esto. A mi banda de música que dejé para iniciar esto, espero pronto reencontrarlos y hacer esa música que tantos nos apasiona. A mis amigos, Carlos, Rabelín, Tania, Patricia, Marilyn... Aun recuerdo cuando me hicieron la fiesta de despedida esto es por ustedes y gracias. Jorgito, Marquitos y Omarcito...viejos amigos que con el tiempo lucen como hermanos..Los quiero.

Y finalmente a mi novia bonita...mi Yatzul (para los cuates Yakul). La misma que le basta una tarde nublada para que chille, y que en los ya casi 3 años ha estado siempre conmigo. Esto también tuyo y felicidades. Gracias mi corazón, gracias por tanto, y aún hay más. Jijiji.

Para todos....los mencionados (los no mencionados también), tengan la certeza que estaré con ustedes cuando me necesiten, incondicionalmente.

Los amo y aprecio mucho... Gracias por ser parte de mi vida y mi entorno. Enhorabuena.

Juan Carlos.

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros: Dr. Gustavo Esteban Lugo Zamudio, Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos, Dra. Lizbeth Becerril Mendoza y Dra. Anna Sofía Vargas Avilés, por compartirme su excelencia académica y humana.

A mis compañeros y amigos

A todos ustedes mi eterno respeto, agradecimiento y cariño.

ÍNDICE

ABREVIATURAS

1. RESUMEN
2. INTRODUCCIÓN
 - 2.1 Artritis reumatoide
 - 2.1.1 Definición
 - 2.1.2 Epidemiología
 - 2.1.3 Susceptibilidad genética
 - 2.1.4 MicroRNA
miR-146^a
miR499
 - 2.1.5 Manifestaciones clínicas
3. JUSTIFICACIÓN
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN
5. HIPÓTESIS
6. OBJETIVOS
 - 6.1 Objetivo primario
 - 6.2 Objetivos secundarios
7. METODOLOGÍA
 - 7.1 Tipo de estudio
 - 7.2 Ubicación temporal y espacial
 - 7.3 Criterios de selección de la muestra
 - 7.4 Cálculo del tamaño de muestra
 - 7.5 Variables
 - 7.6 Descripción operativa
 - 7.6.1 Detección de pacientes
 - 7.6.2 Exploración de pacientes
 - 7.6.3 Revisión de expedientes
 - 7.6.4 Toma de muestras
 - 7.6.5 Extracción de ADN
 - 7.6.6 Genotipificación de miRNA
8. Análisis estadístico
9. RECURSOS
10. CONSIDERACIONES ÉTICAS
11. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES
12. RESULTADOS
13. DISCUSIÓN
- 14 BIBLIOGRAFÍA

1 RESUMEN

La artritis reumatoide (AR) se define como una enfermedad crónica, de etiología multifactorial e inflamatoria; cuya afectación es sistémica, caracterizada por daño a nivel articular por sinovitis persistente que causa dolor y destrucción articular, lo que da lugar a una discapacidad progresiva. A pesar de ser considerada una enfermedad propia de las articulaciones, la respuesta inmune conlleva a manifestaciones sistémicas, causando una gran variedad de manifestaciones extraarticulares (MExa). Recientemente el campo de la epigenética ha llamado poderosamente la atención, al demostrar que ciertos polimorfismos genéticos pueden influir en la susceptibilidad a AR, incluso en severidad.

Objetivo. Determinar si las variantes genéticas tipo polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de los genes miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T y miR-499 (rs3746444A/G) se asocian con MExa en pacientes con AR.

Material y métodos. Se incluyeron 133 casos de pacientes mexicanos con diagnóstico de AR, 126 (94.7%) mujeres y 7 (5.3%) hombres. Se evaluó la frecuencia y porcentaje de las MExa: nódulos reumatoides, fenómeno de Raynaud, epiescleritis, escleritis, queratitis ulcerativa periférica (QUP), mononeuritis múltiple, polineuritis múltiple y vasculitis cutánea; y de comorbilidades: sobrepeso, obesidad, HAS, DM2, EVC e hipotiroidismo. Se compararon los grupos sin y con la MExa más frecuente. Se evaluó la frecuencia de las variantes genéticas tipo SNP de los genes miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T y miR-499 (rs3746444A/G) y su asociación con MExa.

Resultados. Las MExa se presentaron en 24 (18%) pacientes, con nódulos reumatoides en 8 (6 %), fenómeno de Raynaud 4 (3 %), epiescleritis 1 (0.8%), QUP 1 (0.8%), mononeuritis múltiple 1 (0.8%), polineuritis 1 (0.8%) y vasculitis cutánea 1 (0.8%). Se encontró HAS en 21 (15.8%) pacientes, DM2 en 9 (6.8%), EVC en 1 (0.8%) e hipotiroidismo en 7 (5.3%). No se encontró diferencia estadística entre los grupos de pacientes con y sin nódulos reumatoides. No se encontró asociación de los SNP de los genes miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T y miR-499 (rs3746444A/G) con el desarrollo de MExa.

Conclusiones. Se requiere completar la muestra para identificar si existe asociación de los SNP de los genes miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T y miR-499 (rs3746444A/G) con las MExa en la población mexicana, ya que se ha reportado riesgo de presentarlas en otras poblaciones.

2 INTRODUCCIÒN

2.1 Artritis reumatoide

2.1.1 Definición

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad crónica autoinmune de causa desconocida, cuyo proceso fisiopatológico inicia en la sinovia, afecta principalmente pequeñas, medianas y grandes articulaciones y por su carácter sistémico puede manifestarse a nivel extraarticular. impactando de manera negativa en la calidad y esperanza de vida del paciente y en la economía individual y familiar.^{1, 2, 3, 4, 5}

2.1.2 Epidemiología

La prevalencia mundial de AR es de aproximadamente 0.5 a 1% con importantes variaciones geográficas y de ciertos grupos étnicos; por ejemplo, en países europeos, como Francia, se reportan las tasas más bajas, en contraste con Reino Unido y Grecia donde se reportan las más altas. Como grupo étnico con tasas más altas de prevalencia destacan los indios Pima de Arizona.^{6, 7, 8} En América Latina, en Argentina se reportan prevalencias del 0.9%, Brasil 0.45 y Colombia 0.01. En México a través del estudio COPCORD se demostró que la AR ocupa el segundo lugar dentro de las enfermedades reumatológicas más prevalentes, después de la osteoartritis, con una prevalencia de 1.6%, con una mayor frecuencia en mujeres que en hombres, 1.8 y 0.8% respectivamente y notables diferencias en la prevalencia por regiones geográficas, destacando el estado de Yucatán donde se encontró la más alta prevalencia, de hasta 2.8%.⁹

2.1.3 Susceptibilidad genética

Existe evidencia contundente de la trascendencia de los factores genéticos en la patogenia de la AR. El factor genético tiene una influencia de entre 50 a 60% en la presentación de la enfermedad, siendo un 30% la asociación a HLA y el resto a diversos genes no HLA.¹⁰ Algunos alelos HLA-DRB1, especialmente en pacientes con FR y PCC y

el antecedente de tabaquismo en portadores de HLA-DRB1, se han vinculado con la susceptibilidad de un individuo para desarrollar la enfermedad. Aun cuando se conoce el efecto que tienen los genes HLA en la patogenia de AR, a través de análisis de asociación del genoma, se han identificado otros genes localizados en la región del HLA, y que no únicamente confieren susceptibilidad, sino también gravedad y respuesta terapéutica.¹

La AR tiene como principio la combinación de factores predeterminados y eventos relacionados al azar, la susceptibilidad está dada por patrones genéticos inherentes, asociados al antígeno leucocitario humano (*HLA*) así como a determinados genes no-*HLA*.

2.1.4 MicroRNA

Fue en el año de 2007 cuando se encontró un vínculo entre microRNAs (miRNA) y la presentación de AR. Posteriores estudios han replicado los mismo resultados, indicando que una desregulación epigenética podría tener un profundo impacto en la fisiopatología de AR. De tal forma que en la actualidad, son más de 2500 miRNA humanos los que se encuentran bajo intensa investigación. Además de su papel en enfermedades autoinmunes como AR, se ha demostrado que los miRNA tienen un papel en la fisiopatología de otras enfermedades como el cáncer, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, entre otros. Los miRNA al participar como reguladores en múltiples procesos biológicos, son buenos candidatos como biomarcadores de diagnóstico, actividad, respuesta terapéutica y pronóstico.^{11,12}

Los miRNA son pequeños nucleótidos de RNA no codificantes que regulan la expresión genética postraduccional a través de su unión a la región 3 no traducida de su RNA mensajero (RNAm) blanco, condicionando inhibición de la traducción de proteínas.¹⁴ Aun cuando solo constituyen el 3% del genoma humano, tienen la capacidad de regular el 90% de los genes. Tienen un rol en la proliferación y diferenciación celular; metabolismo, homeostasis, apoptosis, morfogénesis de extremidades y génesis tumoral, así como en la respuesta inmune innata y adquirida.^{13 14}

En condiciones patológicas, los miRNAs mantienen o promueven enfermedades mediante la regulación de múltiples genes. Un solo miRNA puede regular cientos de genes, demostrándose la gran influencia sobre el genoma incluido sobre el sistema inmune.¹²

En su forma más básica, los miRNAs funcionan como reguladores negativos de la expresión de genes diana, por supresión postraduccional o escisión directa del miRNA. Sin embargo existe evidencia que indica que bajo ciertas circunstancias el miRNA puede funcionar como regulador positivo de la expresión génica.

2.1.4.1 miR-146a

Este representa uno de los miRNA más estudiados en AR. Niveles aumentados de este se encuentran en líquido y tejido sinovial, células mononucleares de sangre periférica y en sangre de paciente con AR. Al miR-146-a se le conocen 2 genes diana, el factor 6 asociado a receptor TNF alfa/TNF (TRAF6) y la kinasa asociado a receptor de IL-1 (IRAK1). Todo parece indicar que la regulación a la alza de miR146a incrementa la producción de TNF alfa, mediada por el IRAK1, que son claves en las vías de señalización de citocinas y del receptor tipo Toll (TLR). La evidencia actual es conflictiva entre el nivel de miR-146a y el curso de la enfermedad. Mientras que unos estudios reportan que el nivel de miR146a no se correlaciona con el nivel de actividad, y otros reportan una relación positiva entre miR-1246a y el nivel de actividad de la enfermedad, medido por reactantes de fase aguda elevados e índice de actividad.^{11 12 15 16}

Debido a que miR-146a, puede encontrarse elevado en otras patologías como osteoartritis; su utilidad como biomarcador diagnóstico es cuestionable.¹⁷

Los polimorfismos de un solo nucleotido de un gen miRNA puede influir profundamente sobre la expresión genética. La variante rs2910164 de miR-146 a esta asociado con riesgo a desarrollar diversos tipos histológicos de cancer, así como se a encontrado su presencia en fibroblastos sinoviales, tejido sinovial y plasma de pacientes con AR. Sin embargo hay reportes de estudios en donde no se encontró asociación genética entre miR-146a rs2910164 y susceptibilidad a AR.¹⁸

2.1.4.2 miR499

Como ya previamente se comentó los miRNA son de importancia biológica, con capacidad de regular procesos celulares como proliferación o apoptosis, así como por su presencia de múltiples líquidos y tejidos corporales; miR499 es otro de los implicados en autoinmunidad y enfermedades inflamatorias. Este influye directamente sobre ciertas citocinas como IL-17R beta, ILR beta, IL-23 alfa, IL-2R, IL-6, IL-2, IL-18R.

La variante SNP de rs3746444 del miR499 también se ha implicado a otras enfermedades como diversos tipos de cáncer, enfermedad arterial coronaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y tuberculosis. Mientras que algunos estudios reportan con un incremento en el riesgo a desarrollar AR, otros han fracasado en esta asociación.^{19 20}

2.1.5 Manifestaciones extra-articulares

La AR se ha asociado con riesgo incrementado de morbilidad y muerte prematura secundaria a eventos cardiovasculares a temprana edad, enfermedad pulmonar y neoplasias.²¹

La AR tiene manifestaciones clínicas diversas, el cuadro clínico denominado clásico, se caracteriza por un inicio insidioso y rigidez matutina y dolor y aumento de volumen articular. Las articulaciones característicamente afectadas al inicio de la enfermedad son metacarpofalángicas (MCF), interfalángicas proximales (IFP), interfalángica del dedo pulgar, muñecas y metatarsfalángicas (MTF); en menor porcentaje, codos, hombros, tobillos y rodillas.²²

Esta patología al ser sistémica puede presentar manifestaciones extraarticulares (MExa), existe variación en la literatura acerca de la prevalencia de esta expresión clínica en los distintos estudios realizados en diversas poblaciones. Lo anterior podría asociarse a que no existe un consenso actual con respecto a la clasificación y el grado de severidad de las MExa, y las definiciones son heterogéneas. Recientes estudios epidemiológicos destacan la presencia de MExa como un predictor de severidad y muerte prematura en AR, por lo que deben diagnosticarse y tratarse oportunamente, con una monitorización estricta y continua.

Un estudio realizado en la población de Argentina con AR reportó que hasta el 40% de los pacientes desarrollará manifestaciones extraarticulares, mismas que se asociaron con la positividad de PCC y FR a títulos altos. De acuerdo a la literatura, dichas manifestaciones ocurren en el 17.8 a 40.9% de los pacientes con AR²³. Esta incidencia fue aún mayor en población del norte de Europa. Se ha establecido una estrecha relación entre la severidad de dichas manifestaciones y el incremento en los índices de mortalidad, principalmente las asociadas a complicaciones cardiovasculares de tipo isquémico, siendo la principal causa de muerte en este grupo de pacientes. Se han descrito factores de riesgo para el desarrollo de manifestaciones extraarticulares, como tabaquismo, sexo masculino, enfermedad incapacitante en etapas tempranas, presencia de anticuerpos antinucleares y FR positivo a títulos altos y factores genéticos que incluyen genes de HLA DRB1*04, tirosin fosfatasa, PTPN22 y cambios epigenéticos.²⁴

La afección cardiovascular se manifiesta en el 18-30% de la población con AR; se pueden presentar pericarditis, miocarditis, enfermedad valvular, arritmias y enfermedad cardiaca isquémica. El pulmón se afecta entre un 5 y 10 %, las manifestaciones incluyen pleuritis, neumopatía intersticial, fibrosis, enfermedad nodular pulmonar, bronquiolitis, hipertensión pulmonar, enfermedad de vías aéreas pequeñas o patología pulmonar secundaria al tratamiento las infecciones de vías respiratorias se asocian generalmente con el tratamiento de la enfermedad. La afección renal es rara; la glomerulonefritis, en su mayoría mesangial, se presenta en el 60%, amiloidosis en el 25 % y con menor frecuencia nefritis intersticial. La afección renal es rara; la glomerulonefritis, en su mayoría mesangial, se presenta en el 60%, amiloidosis en el 25 % y con menor frecuencia nefritis intersticial.^{25 26 27 28 29}

Las manifestaciones cutáneas se presentan en el 51% de los pacientes con AR, incluyen nódulos reumatoides, fenómeno de Raynaud y vasculitis cutánea. Los nódulos reumatoides se presentan en 30 %, y hasta el 90 % son factor reumatoide (FR) positivo y se asocian con riesgo de presentar otras MExa. La prevalencia de la neuropatía periférica en AR es de 32%, aumenta conforme se deteriora la clase funcional, se presenta en pacientes con evolución de la enfermedad mayor a 10 año. Se han reportado alteraciones electrofisiológicas en 85% de los casos.^{30 31} La vasculitis reumatoide es una complicación infrecuente de la AR, abarca del 0.6-3.6% y comprende un amplio espectro

de manifestaciones clínicas, entre ellas se incluyen arteritis distal (hemorragias en astilla, infartos periungueales y gangrena), ulceración cutánea (incluyendo pioderma gangrenoso), púrpura palpable, neuropatía periférica (mononeuritis múltiple o neuropatía en guante y calcetín), y arteritis visceral; en el 80% de los casos, se manifiesta en piel.³²

Las MExa oculares de la AR se presenta hasta en el 27% de los pacientes, incluyen queratoconjuntivitis sicca, nódulos conjuntivales, epiescleritis, escleritis, queratitis ulcerativa periférica y muy raro, neuritis óptica, neuropatía óptica isquémica anterior o vasulitis retiniana; la más frecuente es la queratoconjuntivitis sicca, presentándose en el 15-27%, la epiescleritis/escleritis y la QUP se han reportado con un rango entre 4-10% y 1.4-3%,⁵ respectivamente.^{33 34 35}

A nivel hematológico, las MExa se expresan entre el 33 y 60 % de los pacientes con AR; predominan la anemia microcítica hipocrómica y niveles bajos de ferritina, se observa con poca frecuencia aplasia de células rojas o eosinofilia. El síndrome de Felty se manifiestan en menos del 1 % de los casos y se asocia con enfermedad grave.

La severidad de las MExA en AR se ha relacionado con un incremento de la tasa de mortalidad, principalmente asociada a complicaciones isquémicas que fueron la principal causa de muerte en este grupo de pacientes. Los factores de riesgo que se han identificado para que un individuo con AR presente MExA y una expresión severa de la enfermedad incluyen sexo masculino, tabaquismo, enfermedad incapacitante en etapas tempranas, presencia de anticuerpos antinucleares y FR y factores genéticos tales como genes de HLA DRB1*04, tirosin fosfatasa, PTPN22 y cambios epigenéticos.³⁶

3. JUSTIFICACIÓN

En estudios recientes, varios genes han sido asociados con la susceptibilidad para desarrollar AR. Es relevante buscar la relación entre las variantes tipo SNP en los genes miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T), miR-499 (rs3746444A/G) con

la susceptibilidad a desarrollar manifestaciones extra-articulares en AR en mestizos mexicanos. La mayoría de los estudios de acuerdo a la base genética se han hecho en población caucásica, los cuales sugieren la asociación de polimorfismos de miR-146^a, miR-196^a-2, miR499 sin embargo, es necesario evaluar si en la población mexicana con AR, estos miRNA están asociados con el desarrollo de MExa.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Las variantes genéticas tipo SNP en los genes miR-146a, miR-196a-2 y miR-499 están asociadas con MExa en AR en mexicanos ?

5. HIPÓTESIS

Las variantes tipo SNP en los genes miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T) y miR-499 (rs3746444A/G) están asociadas con las MExa en AR en mestizos mexicanos

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo primario

Determinar si variantes genéticas tipo SNP localizados en los genes miR146a, miR196a-2 y miR- 499 confieren riesgo para desarrollar MExa de AR en una muestra de pacientes mestizos mexicanos.

6.2 Objetivos secundarios

6.2.1 Determinar la frecuencia de los SNP rs2910164G/C, rs116614913C/T, rs3746444A/G de los genes miR-146a, miR196a-2 y miR499, en pacientes mexicanos con AR con y sin MExa

6.2.2 Determinar si los polimorfismos previamente mencionados confieren riesgo para desarrollar MExa en pacientes con AR

6.2.3 Determinar la frecuencia de comorbilidades en pacientes mexicanos con AR.

6.2.4 Conocer si los SNPs de miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T) y miR-499 (rs3746444A/G) están asociados con la comorbilidad en pacientes mestizos mexicanos con AR

6.2.5 Determinar si los polimorfismos de los genes previamente mencionados están asociados con manifestaciones extra-articulares de AR, y si es género dependiente.

7. METODOLOGÍA

7.1 Diseño de la investigación

Observacional, transversal, retrospectivo y analítico.

7.2 Ubicación Temporal y Espacial

Servicio de reumatología y Unidad de Investigación en Enfermedades Metabólicas y Endócrinas del Hospital Juárez de México

Marzo 2015 a Junio 2016

7.3 Criterios de selección de la muestra

De inclusión

Pacientes con diagnóstico de AR acorde a los criterios de clasificación ACR/EULAR 2010

Ambos sexos, edad entre 18 y 65 años

Mestizos mexicanos (persona nacida en México, la cual tiene 2 generaciones ascendentes nacidas en México –dato evaluado por cuestionario) y residentes de México

Consentimiento informado firmado

De exclusión

De no inclusión

Coexistencia de otras enfermedades autoinmunes, excepto Síndrome de Sjögren

Coexistencia con neoplasias activas

Infecciones agudas

De eliminación

Revocación del consentimiento

Muestra insuficiente

Muestra coagulada

Muestra mal procesada

7.4 Tamaño de la muestra

De acuerdo al programa QUANTO, el cual evalúa el tamaño de muestra tomando en cuenta la frecuencia de las variantes a evaluar, el OR, un poder estadístico de al menos

80%, un valor de p menor a 0.05, la prevalencia de la enfermedad y un modelo genético, el número es de 220 pacientes con AR.

7.5 Definición de variable

Variable	Tipo	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operativa
Dependiente				
Manifestaciones clínicas extraarticulares	Cualitativa Dicotómica Nominal	Presente o Ausente	Manifestaciones en otros órganos y sistemas diferentes al sistema musculoesquelético	Presencia de nódulos reumatoides, vasculitis, fenómeno de Raynaud, queratoconjuntivitis seca, síndrome de Sjogren, epiescleritis, escleritis, queratitis ulcerativa central y periférica síndrome de felty, enfermedad pulmonar intersticial
Independiente				

Variable	Tipo	Unidad de medida	Definición conceptual	Definición operativa
Genotipos SNP miR-146a, miR-196, miR-499	cualitativa dicotomica nominal	Presente o ausente	es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G) de una secuencia del genoma	es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G) de una secuencia del genoma

7.6 Descripción operativa

7.6.1 Detección de pacientes

Se detectaron a los pacientes de acuerdo a los criterios de selección, en la clínica de AR de la consulta externa de reumatología de los días martes y jueves. Se invitó a los pacientes detectados a participar en el protocolo de investigación, en caso de aceptar se procedió a la firma del consentimiento informado.

7.6.2 Exploración de pacientes

Se realizó exploración física dirigida en búsqueda de nódulos reumatoides, fenómeno de Raynaud, vasculitis cutánea y se documentaron peso, talla e índice de masa corporal.

7.6.3 Revisión de expedientes

Se realizó revisión de expedientes en búsqueda de antecedentes de nódulos reumatoides, fenómeno de Raynaud, vasculitis cutánea, espiescleritis, escleritis, queratitis ulcerativa periférica, síndrome de Felty, mononeuritis múltiple, polineuritis múltiple, hipotiroidismo, hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus 2, EVC isquémico y cardiopatía isquémica y se documentaron velocidad de sedimentación globular , proteína C reactiva, factor reumatoide y PCC del momento de diagnóstico.

7.6.4 Toma de muestras

Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 ml, en tubos vacutainer que contenían EDTA como anticoagulante.

7.6.5 Extracción de ADN

Las muestras contenidas en tubos con EDTA fueron centrifugadas a 3000 r.p.m durante 10 minutos.

Se tomó la capa de leucocitos y se colocó en un tubo limpio de 15 ml para iniciar el procedimiento de extracción del ADN.

Se agregó a cada tubo de 15 ml, 6 ml de buffer de lavado

Nuevamente, se centrifugó la muestra obtenida de la mezcla, durante 5 minutos a 3500 r.p.m.

Se decantó el sobrenadante.

Se agregaron 6 ml de buffer de lisis de células

Se decantó el sobrenadante y se colocó buffer y proteinasa K (30 microlitros) a la muestra, posteriormente; se incubó la muestra con la mezcla de reactivos durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Se agregó isopropanol (3 ml) a la mezcla de reacción, posteriormente se centrifugó la muestra a 3500 r.p.m durante 5 minutos.

Posteriormente se decantó el sobrenadante y se agregaron 3 ml de alcohol etílico al 70%, nuevamente se centrifugó a 3500 r.p.m. durante 5 minutos.

Se decantó el sobrenadante y se dejó secar el ADN a temperatura ambiente por 5 minutos.

Finalmente, se agregó buffer de elusión de ADN (600 microlitros), se cuantificó el ADN y se hicieron diluciones a 5 ng/microlitro

7.6.6 Genotipificación del miRNA:

Los genotipos de los SNPs miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T y miR-499 (rs3746444A/G) fueron evaluados mediante la técnica 5' exonucleasa "TaqMan". El vial contiene un par de sondas para identificar cada uno de los alelos de los SNPs (los cuales presentan dos alelos: bialélicos). Cada sonda en su extremo 5' contiene un fluoróforo, en una de ellas contiene a los fluoróforos VIC o FAM, que se excitan y emiten fluorescencia a diferente longitud de onda, la cual es detectada por un software y traducida en colores en un plot de discriminación alélica.

- De cada paciente se emplearon 2 microlitros de reacción (cada microlitro contuvo 5 ng).
- Los 2 microlitros se colocaron en lugares específicos de una placa de 96 pozos.
- Posteriormente, cada pozo se le agregaron 5 microlitros de reacción (cada 5 microlitros contuvo lo siguiente; 2.5 microlitros de master mix 2X, 2.465 de agua y 0.035 microlitros de sonda).

- Las placas fueron colocadas posteriormente en un equipo de PCR en tiempo real (de BioRad) durante 45 ciclos, cada ciclo de PCR consistió en 15 segundos 95°C y 1 minuto a 60°C.
- Después de 2 horas, los resultados fueron visualizados en la pantalla del equipo.
- Finalmente, se hizo la discriminación alélica para los SNP en los genes miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T) y miR-499 (rs3746444A/G).

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico descriptivo se realizó con el software IBM SPSS versión 21 y el inferencial con el programa previo y con FINETTI.

La variable cuantitativa demográfica –edad, y las otras variables cuantitativas –tiempo de evolución, VSG, PCR e IMC, se describieron mediante la mediana y rangos intercuartílicos. Por otro lado, la variable demográfica cualitativa dicotómica binomial –sexo- se describió mediante frecuencia y porcentaje, al igual que las otras variables cualitativas dicotómicas nominales –SNP, FR, PCC, MExa, IMC, HAS, DM2, EVC e hipotiroidismo y la cualitativa ordinal –IMC.

Posteriormente se realizó un análisis de homogeneidad de las variables entre los grupos de AR sin y con nódulos reumatoides. De las variables demográficas, para la edad se utilizó el estadístico de Levene, mientras que para el sexo se usó la prueba Chi-cuadrada; con respecto a las otras variables, para tiempo de evolución y PCR *U* de Mann-Whitney, para VSG *t* de student y para FR y CCP, Chi-cuadrada

La comparación de las medianas de VSG, y PCR entre los grupos de pacientes con AR con y sin MExa, se realizó mediante *t de Student*.

Los genotipos se cuantificaron por conteo directo. La prueba estadística empleada en este estudio fue la X^2 . El valor de OR, IC 95% y el valor de *p* se obtuvo con el

Los genotipos se cuantificaron por conteo directo. La prueba estadística empleada en este estudio fue la X^2 . El valor de OR, IC 95% y el valor de p se obtuvo con el programa FINETTI, el cual además evalúa el equilibrio de Hardy-Weinberg entre genotipos de los SNPs miR-146a, (rs2910164G-C) miR-196a-2 (rs11614913)C/T) y miR-499 (rs3746444A/G).

9 RECURSOS

Equipo médico del servicio de reumatología, auxiliares e investigador de la Unidad de Investigación en Enfermedades Metabólicas y Endócrinas.

10 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente protocolo se realizará de acuerdo a lo dispuesto en la ley general de salud, en materia de investigación en salud y en materia de del genoma humano que se publicó en el diario oficial de la federación del 16 de noviembre 2011. El estudio se apegará a los principios de la asamblea médica mundial para la investigación en seres humanos establecidos en la declaración de Helsinki.

Esta investigación se categorizará con un riesgo mínimo debido a que se extraerá un volumen de sangre de 12ml por punción venosa en adultos hemodinámicamente estables en una ocasión. Este estudio requerirá consentimiento informado por escrito.

El proyecto se aprobó por el comité de ética, investigación y bioseguridad del Hospital Juárez de México.

11 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Marzo 2015			Abril 2016	Mayo 2016	Junio 2016
Inclusión de pacientes						
Toma de muestras						
Determinación de variantes genéticas						
Análisis de resultados						

12 RESULTADOS.

Se incluyeron 133 pacientes con diagnóstico de AR, se describen las características demográficas en las tablas 1. La variable “edad” presenta distribución normal, de acuerdo a asimetría y curtosis.

Tabla 1. Características demográficas de los pacientes con artritis reumatoide

Variable	Pacientes con Artritis reumatoide
Tamaño - Número	n = 133
Edad - Años	
Mediana	48.9
Rango intercuartílico	40 – 58
Asimetría	0.08
Curtosis	-0.36
Sexo - Número (%)	
Femenino	126 (94.7)
Masculino	7 (5.3)

Se identificaron 24 (18%) pacientes con AR y MExa, las manifestaciones evaluadas fueron: nódulos reumatoides, Raynaud, QUP, epiescleritis, escleritis, mononeuritis múltiple, polineuritis múltiple, Felty y vasculitis cutánea, de la cuales se identificaron: nódulos reumatoides, Raynaud, QUP, epiescleritis, mononeuritis múltiple, polineuritis múltiple y vasculitis cutánea cuya frecuencia y porcentaje se describen en la Tabla 2.

Tabla 2 Manifestaciones extraarticulares en la población con artritis reumatoide

MExa	NR	Raynaud	QUP	Epi	MM	PM	VC
n (%)	8 (6)	4 (3)	1 (0.8)	1 (0.8)	1(0.8)	1 (0.8)	1 (0.8)

NR-nódulos reumatoide, QUP-queratitis ulcerativa periférica, Epi-epiescleritis, MM-mononeuritis múltiple, PM-polineuritis múltiple, VC-vasculitis cutánea.

La comorbilidad evaluada en los pacientes fue: HAS, DM2, CI, EVC, sobrepeso, obesidad, e hipotiroidismo; la frecuencia y porcentaje se muestra en la tabla 3.

Tabla 3. Comorbilidad en la población con artritis reumatoide.

HAS	DM2	EVC	Sobrepeso	Obesidad	Obesidad clase 1	Obesidad clase II	Hipotiroidismo
21(15.8%)	9(6.8%)	1(0.8%)	58 (43.6%)	7 (5.3%)	17(12.8)	5 (3.8)	7 (5.3%)

Con respecto a la los reactantes de fase aguda, FR y PCC, en el momento del diagnóstico de artritis reumatoide e IMC, se describe en la tabla 4, 5 y 6. La variable VSG presentó distribución normal y las variables tiempo de evolución, PCR e IMC, distribución libre. La mediana (rango intercuartílico) de la variable tiempo de evolución fue 51.7 (27.7-101.4).

Tabla 4. Reactantes de fase aguda de la población con artritis reumatoide

	VSG	PCR
Mediana	37	0.11
Asimetría	-0.38	9
Rango	22-45	0.03-0.27
intercuartílico		
Curtosis	-0.3	85.4

VSG-velocidad de sedimentación globular, PCR-proteína C

Tabla 5. Factor reumatoide y CCP de la población con artritis reumatoide

Títulos	FR	PCC
	n (%)	n (%)
Negativo	7 (5.3)	2 (1.5)
Positivo bajo	19 (14.3)	5 (3.8)
Positivo alto	106 (79.7)	65 (48.9)
Sin muestra	1 (0.8)	61 (45.9)

FR-factor reumatoide, PCC-anticuerpos anti-péptido cíclico

La mediana (RI) de la variable IMC fue 26 (23.4-29.1). La población estudiada se clasificó de acuerdo al IMC en normal, con sobrepeso, obesidad, obesidad clase I, obesidad clase II cuya frecuencia y porcentaje se describen en la tabla 6.

Tabla 6. Clasificación de la población con artritis reumatoide de acuerdo a índice de masa corporal

IMC	n(%)
Peso normal	46(34.6)
Sobrepeso	58(43.6)
Obesidad	7(5.3)
Obesidad clase I	17(12.8)
Obesidad clase II	5(3.8)
Total	133

Tabla 7. Características demográficas de los pacientes con artritis reumatoide.

Variable	sin nódulos	con nódulos
Tamaño - Número	n = 125	n = 8
Edad – Años		
Media	48.9	54.2
DS	(±12.8)	(±12.2)
Sexo - Número (%)		
Femenino	119 (94.4)	7 (87.5)
Masculino	6 (85.7)	1 (12.5)

Tabla 8. Reactantes de fase aguda de la población con artritis reumatoide sin y con nódulos

Variable	sin nódulos	con nódulos
Tamaño - Número	n = 125	n = 8
VSG mm/hr		
Media	33.2	36.5
DS	±14.75	±16.25
PCR mg/L		
Media	0.46	2.3
DS	±2.8	±5.7

VSG-velocidad de sedimentación globular, PCR-proteína C reactiva

Tabla 9. Factor reumatoide y CCP de la población con artritis reumatoide sin y con nódulos

Variable	sin nódulos	con nódulos
Tamaño - Número	n (%)	n (%)
FR		
Negativo	7 (5.6)	0
Positivo bajo	19 (15.2)	0
Positivo alto	98 (78.4)	8 (100)
Sin muestra	1 (0.8)	0
PCC		
Negativo	1 (0.8)	1 (12.5)
Positivo bajo	5 (4)	0

Positivo alto	63 (50.4)	2 (25)
Sin muestra	56 (44.8)	5 (62.5)

Se compararon los grupos de los pacientes con AR sin y con nódulos con respecto a la edad, sexo, tiempo de evolución, VSG, PCR, FR. No se evaluó PCC, ya que no se reportó el dato en el expediente en 56 pacientes sin nódulos y 5 con nódulos.

Se identificó diferencia estadística únicamente en la variable PCR ($p=0.032$).

Tabla 10. Análisis de frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs2910164G-C del *miR-146a* en pacientes con AR con y sin nódulos reumatoides

GENOTIPO	SIN NÓDULOS		CON NÓDULOS		OR	IC 95%	P
	n	(%)	n	(%)			
GG	60	(48.0)	3	(37.5)	--	--	--
GC	53	(42.4)	5	(62.5)	1.88	0.43- 8.27	0.39
CC	12	(9.6)	0	(0)	0.69	0.03- 14.24	0.44
ALELO							
G	173	(69.2)	11	(68.8)	--	--	--
C	77	(30.8)	5	(31.2)	1.02	0.34- 3.04	1.00

AR-artritis reumatoide, NR-nódulo reumatoide, OR-odds ratio, IC interval de confianza, * p estadísticamente significativo

Tabla 11. Análisis de frecuencia genotípicas y alélicas del SNP rs2010164G-C del *miR-146a* en pacientes con AR con y sin MEXa.

GENOTIPO	SIN MEXA		CON MEXA		OR	IC 95%	P
	n	%	n	%			
GG	54	(49.1)	9	(39.1)	--	--	--
GC	47	(42.7)	11	(47.8)	1.40	0.54- 3.68	0.49
CC	9	(8.2)	3	(13.0)	2.00	0.45- 8.83	0.35
ALELO							
G	155	(70.4)	29	(63.0)	--	--	--
C	65	(29.6)	17	(37.0)	1.34	0.72- 2.71	0.32

AR-artritis reumatoide, MEXa-manifestaciones extraarticulares, OR-odds ratio, IC interval de confianza, *p estadísticamente significativo

Tabla 12. Análisis de frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs11614913C/T del *miR-196a-2* en pacientes con AR con y sin nódulos reumatoides.

GENOTIPO	SIN NODULOS		CON NODULOS		OR	IC 95%	P
	n	%	n	%			
CC	44	(35.2)	0	(0.0)	--	--	--
CT	62	(49.6)	7	(87.5)	10.68	0.59- 191.9	0.03
TT	19	(15.2)	1	(12.5)	6.84	0.27- 175.6	0.13
ALELO							
C	150	(60.0)	7	(43.7)	--	--	--
T	100	(40.0)	9	(56.3)	1.93	0.70- 5.35	0.20

AR-artritis reumatoide, NR-nódulo reumatoide, OR-odds ratio, IC interval de confianza, *p estadísticamente significativo

Tabla 13. Análisis de frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs11614913C/T del *miR-196a-2* en pacientes con AR con y sin MEXa

GENOTIPO	SIN MEXA		CON MEXA		OR	IC 95%	P
	n	%	n	%			
CC	42	(38.2)	2	(8.7)	--	--	--
CT	55	(50.0)	14	(60.9)	5.34	1.15- 24.81	0.02
TT	13	(11.8)	7	(30.4)	11.31	2.09- 61.29	0.001
ALELO							
C	139	(63.2)	18	(39.1)	--	--	--
T	81	(36.8)	28	(60.9)	2.67	1.39- 5.12	0.002

AR-artritis reumatoide, MEXa-manifestaciones extraarticulares, OR-odds ratio, IC interval de confianza, *p estadísticamente significativo

Tabla 14. Análisis de frecuencias genotípicas y alélicas del SNP rs3746444A/G del *miR-499* en pacientes con AR con y sin nódulos reumatoides.

GENOTIPO	SIN NODULOS		CON NODULOS		OR	IC 95%	P
	n	%	n	%			
AA	115	(92.0)	6	(75.0)	--	--	--
AG	9	(7.2)	2	(25.0)	2.02	0.38- 10.74	0.40
GG	1	(0.8)	0	(0.0)	5.92	0.22- 160.0	0.82
ALELO							
A	239	(95.6)	14	(87.5)	--	--	--
G	11	(4.4)	2	(12.5)	1.69	0.36- 7.95	0.68

AR-artritis reumatoide, NR-nódulo reumatoide, OR-odds ratio, IC interval de confianza, *p estadísticamente significativo

Tabla 15. Análisis de frecuencias genotípicas y alélicas del rs3746444A/G del miR-499 en pacientes con AR con y sin MExa

SIN MEXA			CON MEXA				
GENOTIPO	n	%	n	%	OR	IC 95%	P
AA	100	(90.9)	21	(91.3)	--	--	--
AG	9	(8.2)	2	(8.7)	1.06	0.21- 5.26	0.94
GG	1	(0.9)	0	(0.0)	1.56	0.06- 39.6	0.65
ALELO							
A	209	(95.0)	44	(95.6)	--	--	--
G	11	(5.0)	2	(4.4)	0.86	0.18- 4.03	1.03

AR-artritis reumatoide, MExa-manifestaciones extraarticulares, OR-odds ratio, IC interval de confianza, *p estadísticamente significativo

13 Discusión

La población de pacientes con AR incluida en el estudio presenta características demográficas similares a las reportadas en la literatura, con predominio por el sexo femenino, misma que representó el 94.7% como una media de edad de 48.7 años implicando un grupo etario con gran impacto social y económico.³⁷

En este estudio encontramos una prevalencia de MExa en la población de AR de 18% que es menor a la reportada en la literatura que va de un mínimo de 17.8 hasta alcanzar un máximo de 40.9%.²⁶ Con respecto a los nódulos reumatoides, se encontraron en el 6% contrastando con el 30% reportado en otros estudios;²⁶ fue la MExa más frecuentemente identificada; esta diferencia posiblemente sea un reflejo de

infraregisto de esta MExa, todos los pacientes con esta expresión clínica presentaron títulos altos de FR y PCC; asociación fuertemente mostrada en los estudios realizados a nivel mundial;³⁸ El 1.6% de los pacientes estudiados presentaron algún tipo de neuropatía periférica cifra similares a la reportadas en la literatura con un 1%.²⁶

La prevalencia de Raynaud en la población estudiada fue del 3%, significativamente menor que la casuística reportada que va del 5 a 17%.^{26 38} Esto pudiera ser atribuido a la logística en el resguardo de los expedientes o un inadecuado registro de los datos en el mismo.

La epidemiología de las MExa oculares es del 27%²⁶ nosotros pudimos reportar el caso de un individuo con QUP y otro con epidescleritis los cuales representan el 1.6% de nuestra población estudiada. Esto se traduce en lo relevante que es un examen físico completo y minucioso en los pacientes con AR; así como la búsqueda intencionada de MExa, puesto que la presentación atípica de esta entidad nos orienta al pronóstico tórpido y severo que presentarán los pacientes. Es muy posible que por el carácter retrospectivo de nuestro estudio, ciertas variables pudieron no haberse registrado adecuadamente en los expedientes.

Se evaluó la prevalencia de sobrepeso y obesidad en nuestra población de estudio, encontrándose de 43.6% para sobrepeso y 12.8% de obesidad clase I, con menor proporción de otros grados de obesidad. De acuerdo a estudios epidemiológicos se ha identificado que aproximadamente dos terceras partes de los individuos que padecen AR presentan sobrepeso y obesidad, en los cuales el exceso de grasa se ve reflejado en mayor limitación de movimiento, riesgo cardiovascular incrementado, mayor inflamación y disminución en la eficacia de los medicamentos. Marian T. Hannan en un estudio publicado en *Arthritis Care & Research*, demostró que los pacientes con incremento del IMC tenían un 50% menos de respuesta al tratamiento con agentes biológicos comparados con individuos con peso adecuado, destacó que a mayor cantidad de tejido adiposo mayor es la tensión mecánica a nivel articular, reflejándose en mayor erosión, demostrado por imágenes radiográficas.

La incidencia de hipotiroidismo en nuestra población estudiada fue del 5.3% representada por 8 pacientes, epidemiológicamente la prevalencia de hipotiroidismo clínico en la población general es de 0.6 a 0.8% y la forma subclínica de 4 a 8%, las

personas mayores de 60 años tienen una frecuencia mayor, calculada entre 9 y 16%; por lo cual se puede concluir que en la población con AR la incidencia es casi del doble respecto a la población general, mismos resultados obtenidos en este estudio, ya que no tuvimos pacientes mayores de 60 años, por lo que no se altera dicha relación por causa de la edad.

De acuerdo a estudios realizados se ha visto que el hipotiroidismo puede modificar la expresión clínica de la AR y hacerla más sintomática; así como puede predisponer a otras artropatías como la mediada por cristales; además de predisponer a refractariedad al tratamiento; es de suma importancia conocer que la incidencia de esta patología es alta en la población con AR debido al factor autoinmune que presenta; lo cual causaría un impacto tanto en la calidad de vida como en la respuesta terapéutica de los pacientes la búsqueda intencionada de alteraciones en la función tiroidea; debido al reconocimiento temprano y la administración temprana del tratamiento.³⁹

De los 133 pacientes con AR estudiados, el 6.8% se encontró con DM2, el resto de la población sin presentar significancia estadística para el riesgo cardiovascular. Según series publicadas en el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades muestran que más de la mitad de las personas con DM2 presentan algún tipo de artropatía; se ha visto que esta población está predispuesta a presentar mayor daño a nivel musculoesquelético, así como mayor puntuación en las escalas de dolor utilizadas y en los cuestionarios de síntomas de depresión. El control estricto de los niveles de glucosa produce un impacto a nivel cardiovascular, en el estilo de vida y en los riesgos a desarrollar alteraciones a nivel microvascular en la población general y aún más en la población con AR que presenta un riesgo cardiovascular aumentado. Sin embargo en otros estudios, es debatible el rol de la DM2 en relación de un incremento en el riesgo cardiovascular, ya que no se encontró una relación estadísticamente significativa cuando se incluyó a la DM2 como una co-variable.⁴⁰

La incidencia de HAS en la población fue del 15.8%, tal incidencia concuerda a otras publicaciones realizadas a nivel mundial, en donde se ha podido correlacionar el tiempo de evolución de la enfermedad con la severidad de la misma, así como mayor riesgo cardiovascular. Debido al compromiso extraarticular que presenta la AR, es de suma importancia la detección temprana de la HAS, el control estricto de las cifras tensionales y su tratamiento temprano. En los últimos años diversos estudios

epidemiológicos han sugerido una mayor tasa de mortalidad por enfermedad cardíaca intrínseca en pacientes con AR en comparación con la población general de igual edad y sexo; lo que nos sugiere la importancia de un adecuado abordaje en esta población con la realización de estudios enfocados a determinar la afección cardiovascular que presentan y así disminuir el riesgo cardiovascular per sé. En un estudio de cohorte de pacientes con AR de reciente diagnóstico se encontró un incremento en el riesgo absoluto a 10 años de enfermedades cardiovasculares si HAS estaba presente. En otros estudios se demostró un alto índice de HAS no diagnosticada son más altos en pacientes con AR que la población general.⁴⁰

Nuestros resultados no proveen evidencia de asociación entre los polimorfismos de miRNA evaluados y las MExa en pacientes con AR, probablemente debido a que no se alcanzó un tamaño de muestra adecuada, una posible explicación a esto es una cantidad de pacientes que acudan a la consulta externa de reumatología del hospital Juárez de México, y que además estén dispuestos a participar en el estudio.

14 Bibliografías.

¹ McInnes L, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*. 2011;365:2205-19.

² Turesson C, Jacobsson L, Bergström U. Extra-articular rheumatoid arthritis: prevalence and mortality. *Rheumatology (Oxford)*. 1999;38:668-674.

³ Moreland L. Unmet needs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7:S2-S8.

⁴ McCain JA Jr. Unmet needs in the treatment of rheumatoid arthritis. *Managed Care*. 2009;18:1-6.

-
- ⁵Bansback N, Marra CA, Finckh A, Anis A. The economics of treatment in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2009;23:83-92.
- ⁶ Aletaha D, Neogi T, Silman A. Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum*. 2010;62:2569-2581.
- ⁷ Helmick C, Felson D, Lawrence R. National Arthritis Data Workgroup. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part I. *Arthritis Rheum*. 2008;58:15-25.
- ⁸ Silman A, Pearson J. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res*. 2002;4:S265-S272.
- ⁹ Peláez-Ballestas I, Sanin L, Moreno-Montoya J, Alvarez-Nemegyei J, Burgos-Vargas R, Garza-Elizondo M. Epidemiology of the Rheumatic Diseases in Mexico. *J Rheumatol* 2011; 38 Suppl 86: doi:10.3899/jrheum.100951
- ¹⁰ Garavito G, Díaz A, Malagón C, Genetics Biomarkers off the MHC/HLA-DRB1* and PTPN 22 Systems Associated to Rheumatic diseases: idiopathic juvenile arthritis and rheumatoid of early installation. A descriptive approach in a pilot study, Laboratorio de Inmunología y Biología Molecular, Barranquilla 2013.
- ¹¹ Churov AV, Oleinik EK, Knip M. MicroRNAs in rheumatoid arthritis: altered expression and diagnostic potential. *Autoimmun Rev*.2015;14(11):1029-37.
- ¹² Singh RP, Massachi I, Manickavel S, Singh S, Rao NP, Hasan S et al. The role of miRNA in inflammation and autoimmunity. *Autoimmun Rev*.2013;12(12):1160-5
- ¹³ Filkova M, Jungel A, Renate E, Steffen G. MicroRNAs in Rheumatoid Arthritis. *Biodrugs* 2012; 26
- ¹⁴Song Y, Guiling L, Jian-Hua H, Yang L. Bioinformatics-Based Identification of MicroRNA-Regulated and Rheumatoid Arthritis-Associated Genes. *journal.pone*. 2015: e0137551
- ¹⁵ Sharma Ar, Sharma G, Lee SS, Chakcraborty C. miRNA-Regulated Key Components of Cytokine Signaling Pathways and Inflammation in Rheumatoid Arthritis. *Med Res Rev*.2016;36(3)425-39.
- ¹⁶ Nakasa T, Nagata Y, Yamasaki K, Ochi M. A mini-review: microRNA in arthritis. *Physiol Genomics*.2011;1(10):566-70.
- ¹⁷ Chung IM, Ketharmathan S, Thiruvengadam M, Rajajumar G. Rheumatoid Arthritis: The Stride from Research to Clinical Practice. *Int J Mol Sci*.2016;17(6),900.

-
- ¹⁸ LI K, Tie H, Hu N, Chen H, Yin X, Peng C et al. Association of two polymorphisms rs2910164 in miRNA-146a and rs3746444 in miRNA-499 with rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Hum Immunol.*2014;75(7):602-8.
- ¹⁹ Hashemi M, Eskandari-Nasab E, Zakeri Z, Atabaki M, Bahari G, Jahantigh . Association of pre-miRNA-146a rs2910164 and pre-miRNA-499 rs3746444 polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis. *Mol Med Rep.* 2013;7(1):287-9.
- ²⁰ Lu L, Tu Y, Liu L, Qi J, He L. MicroRNA-499 rs3746444 polymorphism and autoimmune diseases risk: a meta-analysis. *Mol Diagn Ther.*2014;18(2):237-42.
- ²¹ Lagrutta M, Gelsomina A, Parodi y Alcides R , Greca A , Manifestaciones extraarticulares graves de AR en ausencia de artritis activa, tras remisión espontanea sostenida, *Reumatol Clin.*2016;12(4):233-225.
- ²²Turesson C, Matterson EL. Management of extra-articular disease manifestations in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol.*2004;16(3) 206-11.
- ²³ Mielants H, Van den Bosch F. – Extra-articular manifestations. *Clin Exp Rheumatology* 2009; 27(Suppl. 55): S56-S61. 3.
- ²⁴ Bongartz T, Cantaert T, Atkins SR, et al. – Cirullination in extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis. *Rheumatol (Oxford)* 2007; 46(1): 70-5
- ²⁵ Moreland LW, Curtis Jr. Systemic nonarticular manifestations of rheumatoid arthritis: focus on inflammatory mechanisms. *Semin Arthritis Rheum.*2009;39(2):132-43.
- ²⁶ Prete M, Racanelli V, Digiglio L, Vacca A, Dammacco F, Perosa F. Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: An update.*Autoimmun Rev.*2011;11:123-31.
- ²⁷ O'Donnell DE, Ora J, Webb KA. Mechanisms of activity-related dyspnea in pulmonary diseases. *Respir Physiol Neurobiol.*2009;167(1):116–32. 2
- ²⁸ LeslieKO,TrahanS,GrudenJ. Pulmonary pathology of the rheumatic diseases. *Semin Respir Crit Care Med* 2007;28(4):369–78.
- ²⁹ Carmona L, Cross M, Williams B, Lassere M, March L. Rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2010; 24: 733-45
- ³⁰ Flores A, Suarez CI, Sanchez AD, Peteiro C, Toribio C. Vasculitis cutánea, neutropenia y fiebre en una pacientes con artritis reumatoide grave. *Actas Dermosifiliogr* 2001;92:465-9.
- ³¹ Morales CE, Santos RM, Garcpía VB. Neuropatía periférica en pacientes con artritis reumatoide. *Archivos de neurociencia.*2009: 22-26, 2009.
- ³² Voskuyl AE, Zwinderman A, Westedt ML. Factors associated with the development of vasculitis in rheumatoid arthritis, results of cases-control study.*Ann Rheum Dis.*1996;55:190-2

-
- ³³ Vignesh AP, Srinivasan R. Ocular manifestations of rheumatoid arthritis and their correlation with anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. *Clin Ophthalmol.* 2015;9:393-7.
- ³⁴ Wong TY, Albani S. The eye: a window of opportunity in rheumatoid arthritis? *Nat Rev Rheumatol* 2014;10(9):552-60.
- ³⁵ Artifoni M, Rothschild PR, Brézin A, Guillevin L, Puéchal X. Ocular inflammatory diseases associated with rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.*2014;10:108-16.
- ³⁶ Richman N, Yazdany J, Graf J, Chernitskiy V, Extraarticular Manifestations of Rheumatoid Arthritis in a Multiethnic Cohort of Predominantly Hispanic and Asian Patients. *Medicine.* 2013; 92: 92–97.
- ³⁷ Uhlig T, Moe RH, Kvien TK. The burden of disease in rheumatoid arthritis. *Pharmacoeconomics.*2014;32(9):841-51.
- ³⁸ Young A, Koduri G. Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis. *Bast Pract Res Clin Rheumatol.*2007;21(5)907-27.
- ³⁹ Innala L, Sjöberg C, Möller B, Ljung L, Smedby T, Södargren A et al. Co-morbidity in patients with early rheumatoid arthritis - inflammation matters. *Arthritis Res Ther.*2016;28:33.
- ⁴⁰ Barbhaiya M, Solomon DH. Rheumatoid arthritis and cardiovascular disease: an update on treatment issues. *Curr Opin Rheumatol.*2013;25(3):317-24.