



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Instituto Nacional de Cardiología
"Ignacio Chávez"

**Expresión de senescencia en pacientes con Rupus mediante la
expresión de linfocitos senescentes y factores de transcripción,
en comparación con artritis reumatoide, lupus eritematoso
sistémico y controles sanos**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
REUMATOLOGÍA

PRESENTA:

Dr. Gumaro Acosta Peña

Tutor
Dr. Luis Manuel Amezcua Guerra

Ciudad de México, julio 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

**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 Lascurain
Jefe del departamento de Reumatología
Profesor Académico del curso de especialización
En Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología
“Ignacio Chávez”

Dr. Gumaro Acosta Peña
Tesista
Médico residente en la especialidad de Reumatología del
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”

Índice:

Resumen	5
Introducción.....	7
Planteamiento de problema.....	17
Justificación.....	18
Pregunta de Investigación.....	19
Hipótesis.....	20
Objetivos.....	21
Material y métodos.....	22
Resultados.....	26
Discusión.....	28
Conclusiones.....	31
Fuentes de información.....	32

Resumen

Expresión de senescencia en pacientes con Rupus mediante la expresión de linfocitos senescentes y factores de transcripción, en comparación con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos

Introducción: El Rupus es una enfermedad autoinmune que se considera superposición entre artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico. Su patogénesis del Rupus es desconocida. Los linfocitos CD4+CD28null son macadores establecidos de senescencia en algunas enfermedades autoinmunes y pueden estar involucradas en otras entidades como es Rupus.

Objetivo: Determinar la presencia de linfocitos senescentes CD4+CD28null en pacientes con Rupus en comparación con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos, así como de factores de transcripción en estas entidades.

Métodos: Es un estudio transversal, comparativo y analítico. Se determinó mediante citometría de flujo el total de linfocitos CD4CD28null y los factores de transcripción ROR gamma T, T-bet y GATA3 en pacientes con Rupus, artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico, para hacer determinar diferencias estadísticas entre los grupos.

Resultados: Se analizaron 10 pacientes con Rupus, 8 pacientes con lupus eritematoso sistémico, 8 con artritis reumatoide y 9 controles sanos. No se encontró diferencia significativa en la expresión de linfocitos senescentes entre los 3 grupos (p 0.71) ni en la expresión de los factores de transcripción ROR gamma T, T bet y GATA 3 en estos pacientes, pero si se observo mayor porcentaje de células CD4+CD28null bet+ en pacientes con Rupus en comparación con los otros 2 grupos y de células CD4+CD28null GATA-3+ en pacientes con lupus que en las otras 2 entidades. Los pacientes con artritis reumatoide y Rupus tiene mayores títulos de anticuerpos que en comparación con los de lupus eritematoso sistémico. Hay mayor expresión de anti Sm y anti RNP en pacientes con lupus eritematoso sistémico, lo cual su presencia puede ser indicador serológico para descartar rupus y artritis.

Conclusiones: No hay diferencia en la expresión de linfocitos senescentes en pacientes con Rupus, artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico. Hay una tendencia de mayor expresión en porcentaje de células CD4+CD28null bet+ en pacientes con Rupus en comparación con los otros 2 grupos y de células CD4+CD28null GATA-3+ en pacientes con lupus que los otros 2 grupos. Los pacientes con artritis reumatoide y Rupus tiene mayores títulos de anticuerpos que en comparación con los de lupus eritematoso sistémico. Hay mayor expresión de anti Sm y anti RNP en pacientes con lupus eritematoso sistémico, lo cual su presencia puede ser indicador serológico para descartar rupus y artritis.

Introducción

En los últimos años ha tomado relevancia la inmunosenescencia en la patogénesis de las enfermedades autoinmunes. Esta se refiere al proceso natural de envejecimiento de las células del sistema inmune que normalmente contribuye al aumento de morbilidad y mortalidad en personas de mayor edad, como el aumento en la susceptibilidad a infecciones y la baja respuesta a la vacunación. Se ha observado de forma interesante que este proceso se presenta de forma prematura en pacientes con enfermedades autoinmunes. (Goronzy JJ, 2010) (Bieke B, 2012).

Una de las principales características de inmunosenescencia en cuanto a marcadores celulares es el aumento de linfocitos CD4+CD28 null. En el proceso de envejecimiento se va perdiendo el coestimulador CD28, lo que impide que se forme el complejo iniciador específico con CD28. Sin embargo, esta pérdida de coestimulador no impide que las células se activen por medio de otros receptores poco diversos. Son células oligoclonales, estimuladas por el mismo tipo de antígeno repetidamente. Estas células CD4+ CD28 null tienen función de células de memoria pero también capacidad de ser citotóxicas, producen granzimas, perforinas y tienen receptores de linfocitos NK. También se ha encontrado que estas células son más resistentes a los mecanismos de apoptosis. (Goronzy JJ, 2010) (Bieke B, 2012).

Se ha encontrado infiltración de tejidos por estos linfocitos en pacientes con esclerosis múltiple, artritis reumatoide, miopías inflamatorias, granulomatosis con poliangiítis y síndromes coronarios. En los 90's se describieron por primera vez los linfocitos CD4+CD28 null en pacientes con artritis reumatoide los cuales se replican fácilmente en un ambiente proinflamatorio donde están

involucradas citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa. Se ha descrito también que los linfocitos CD28 null posteriormente pueden adquirir el marcador CD56 los cuales adquieren la capacidad de producir citocinas como IL-2 y TNF-alfa y son los causantes de infiltrados intersticiales pulmonares en pacientes con neumonitis en el contexto de AR. (Michel JJ, 2007).

En los pacientes con esclerosis múltiple se ha encontrado que los linfocitos CD4+ CD28 null producen niveles mayores de IFN gamma en comparación a los linfocitos CD28 +. (Bieke B, 2012)

No se ha especificado si los linfocitos CD4+CD28 null tienen algún papel en la patogénesis de lupus eritematoso. Se ha reportado un aumento en el porcentaje de linfocitos CD4+ NKG2D +. Este marcador esta limitado a los linfocitos CD4+CD28 null, por lo tanto se infirió que refleja una expansión de linfocitos CD28 null. (Yang D, 2009).

La autoinmunidad es una de las diez principales causas de morbilidad y mortalidad en niñas y jóvenes de mediana edad, con tasas de prevalencia similares en diferentes areas geográficas. Alrededor del 5-30% de los pacientes autoinmunes están inclinados a desarrollar enfermedades autoinmunes adicionales que conducen al desarrollo de enfermedades de superposición. Una superposición entre el lupus y la artritis reumatoide es conocida como Rupus, pero ha habido debate si representa una sola entidad distinta o una enfermedad de superposición.

Rupus es conocido por ser una compleja enfermedad autoinmune músculo-esquelética definida por la poliartritis erosiva. La causa exacta y los desencadenantes

del Rupus siguen siendo desconocidos con los estudios limitados que sugieren el papel combinado de factores genéticos, inmunológicos, hormonales y ambientales en la progresión de la enfermedad. Entre los factores genéticos, los alelos HLA-DR estaban fuertemente asociados con el Rupus, estando presentes en la mayoría de los casos reportados (67%). El papel del sistema inmune ha sido confirmado por la presencia de anticuerpos y complejos inmunes en el perfil sérico. Un vistazo a través de la serie de casos indica la posibilidad de anti-CCP y C-RP como marcadores para el diagnóstico de Rupus. Se ha sugerido que una interacción compleja entre el sistema endocrino y el sistema inmunológico contribuye a la interacción entre el lupus y la AR. Rupus ha desconcertado a los médicos debido a que tiene características clínicas e inmunológicas superpuestas tanto del lupus como de la artritis reumatoide. Durante la década anterior, el interés por las enfermedades superpuestas ha aumentado, ya que representan un reto importante en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad. El lupus es una de las enfermedades autoinmunes más comunes, y una de sus características es la producción de anticuerpos que apuntan casi cada sistema del órgano en el cuerpo, incluyendo la piel, las articulaciones, los riñones, el corazón, los pulmones y el sistema nervioso central. Esta enfermedad se asocia con una multitud de síntomas clínicos e inmunológicos, y los pacientes con lupus tienen una probabilidad del 15% de desarrollar otras comorbilidades, como la artritis reumatoide, polimiositis-dermatomiositis, esclerosis sistémica y síndrome de Sjogren. La artritis es la característica más común asociada con el lupus, y la cuestión de si la artritis del lupus representa una sola entidad distinta o si comparte las características de otra enfermedad musculoesquelética común conocida como artritis reumatoide ha sido muy debatido. Clínicamente, el lupus se caracteriza por una artropatía no erosiva

similar a la fiebre reumática, y menos del 5% de los sujetos desarrollan deformidades articulares.

La artritis reumatoide se caracteriza por una artropatía deformante progresiva con cambios radiológicos. Ambas enfermedades se caracterizan por la participación simétrica de las articulaciones pequeñas y medianas.

El concepto de superposición entre lupus y artritis fue inicialmente descrito por Toone et al., quienes describieron la presencia de células de lupus eritematoso en un grupo de 15 sujetos con artritis reumatoide. Antes de ese punto, se consideró que las células LE estaban presentes exclusivamente en sujetos lúpicos. Desde entonces, la acumulación de datos ha sugerido que ambas enfermedades pueden superponerse.

El término Rupus fue inicialmente introducido por Shur et al. Para referirse a sujetos que satisfagan los criterios tanto para el lupus como para la artritis. La definición de Rupus se ha debatido repetidamente, con algunos autores definiéndolo como mero solapamiento entre el lupus y la artritis reumatoide, mientras que otros restringen la definición a un subconjunto de sujetos lupus con artropatía erosiva similar a la artritis.

La baja incidencia y la falta de criterios diagnósticos bien definidos hacen difícil la identificación de esta enfermedad.

Lo que se ha observado es una superposición de los síntomas clínicos e inmunológicos del lupus y la artritis reumatoide en el caso del Rupus. La mayoría de los sujetos con Rupus (87,5%) presentan deformidades del cuello del cisne y desviaciones ulnares no erosivas, que se consideran dos características de la artropatía lúpica.

Las otras manifestaciones relacionadas con el lupus reportadas en casos de Rupus incluyen erupciones cutáneas (30.7-71%), serositis (15.3-43%), trastornos neurológicos (7.7-14%) y afectación renal (7.7-37.5%).

Del mismo modo, las características asociadas con la artritis reumatoide, como la erosión de la estiloides cubitales, los pseudocistos y el estrechamiento del espacio articular se informaron en el 25% de los casos de Rupus.

Se han descrito discrepancias en la manifestación clínica inicial del Rupus. La mayoría de los casos de Rupus reportados en la literatura presentan los síntomas iniciales de artritis reumatoide seguidos del desarrollo de lupus en un intervalo de 4,3 a 11 años. En un estudio reciente de Tani et al., se informó que el 50% de los casos de Rupus se diagnosticaron inicialmente como lupus, mientras que el 30% de los casos se manifestaron inicialmente como artritis y el 20% presentaron simultáneamente ambas enfermedades.

La aparición inicial de artritis en el 84,3% de los casos de lupus, el lupus en el 7,8% de los casos y la aparición simultánea de ambas enfermedades en el 7,8% de los casos. Se informó que los sujetos Rupus con AR desarrollaron lupus después de un intervalo medio de 9,2 años, mientras que los pacientes con lupus desarrollaron RA después de un intervalo medio de 4,6 años.

El perfil serológico de los sujetos con Rupus indica la presencia de anticuerpos anti-Ro, anti-Ro, anti-La y anti-doble cadena, que son el factor reumatoide positivo (RF), el péptido anti citrullinado (anti-CCP), anti-nuclear y anti-colágeno Una verdadera superposición de lupus y RA. Aunque la presencia de factor reumatoide se consideró inicialmente como una característica exclusiva de la artritis reumatoide,

recientemente se informó en sujetos lúpicos con artrosis erosiva (42-100%) y no erosiva (10-33%).

Otros dos marcadores biológicos considerados específicos para la artropatía erosiva también se observaron en el Lupus: anti-CCP y proteína C-reactiva (C-RP). La producción elevada de anti-CCP se observó específicamente en la AR (96-98%) y en los sujetos lúpicos con artropatía erosiva (57-100%). La frecuencia de su detección se limitó al 0-3% en sujetos lúpicos con artropatía no erosiva. La presencia de anticuerpos anti-CCP puede aumentar el riesgo de desarrollar artropatía erosiva en sujetos lúpicos entre 18 y 28 veces ($p < 0,001$), lo que indica su potencial como marcador serológico.

Se sabe poco sobre la etiología del Lupus, aunque la superposición clínica y serológica de los síntomas observados indica el contexto de autoinmunidad compartida. Tanto el lupus como la AR son enfermedades autoinmunes impulsadas por la inflamación, con fuertes determinantes genéticos.

Hay una probabilidad de un gen causante común o poligenes en la patofisiología de las enfermedades. Varias investigaciones basadas en la familia, estudios poblacionales, estudios de asociación, exploraciones genéticas de enlace y estudios de genes candidatos han proporcionado evidencia adicional de la participación de factores genéticos comunes en la patogénesis de ambas enfermedades.

Las variaciones genéticas dentro del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) han sido bien documentadas en casos de lupus y artritis reumatoide. Los estudios poblacionales han revelado una fuerte asociación genética entre el lupus y las variantes de clase II DRB1 * 03: 01 y DQB1 * 02: 01 así como los alelos DRB1 * 15: 01 y

DQB1 * 06: 0228. Los individuos homocigóticos para DRB1 * 03: 01 y heterocigotos para DRB1 * 03: 01 y DRB1 * 15: 01 han reportado tener el mayor riesgo de lupus. De forma similar, las variantes de clase II más frecuentemente asociadas de la artritis reumatoide incluyen HLA-DRB1 * 0101, * 0102, * 0401, * 0404, * 0405, * 0408, * 0409, * 1001 y * 140229. Las moléculas de HLA-DR que se muestran asociadas con artritis reumatoide comparten el motivo de aminoácidos RAA en las posiciones 72-74 de la tercera región hipervariable (HV3) de la molécula de DR30. Estos alelos se denominan colectivamente un epítipo compartido; Tienden a contribuir al desarrollo de anticuerpos anti-CCP y también están implicados en el lupus y la artritis psoriásica. La mayoría de los sujetos con Lupus (67%) poseen alelos del epítipo compartido, mientras que los sujetos con lupus no erosivo no lo hacen. Se ha reportado un riesgo 8 veces mayor de Lupus en sujetos lupus con dos copias del epítipo compartido, lo que indica su importancia en la fisiopatología de la enfermedad.

Aparte del HLA, recientemente se han asociado con lupus y RA, otros lugares genéticos como PTPN22, STAT4, TNFAIP3, FCGR2A, PRDM1, IRF5 y PXX, lo que indica un alto grado de superposición y la posibilidad de una inflamación compartida. Pathway et al, de manera similar, tanto el lupus como la artritis reumatoide se han caracterizado también por anomalías en la respuesta mediada por células T, con énfasis en la respuesta mediada por Th2 en el lupus y las respuestas mediadas por Th1 y Th17 en RA²³. Un desequilibrio en las células T-reguladoras (T-reg) y Th-17 también ha sido implicado en la fisiopatología de ambas enfermedades, con conexiones claras a la artritis reumatoide; Sin embargo, se obtuvieron resultados contradictorios para el lupus. De forma similar, citocinas pro-inflamatorias tales como

IL-10, IL-12, IL-17 e IL-18 también contribuyen a la progresión de ambas enfermedades.

Un examen detallado de estos factores puede dictar mejores estrategias diagnósticas y terapéuticas.

Las circunstancias que causan la intertransición o co-ocurrencia simultánea de lupus y artritis reumatoide siguen siendo desconocidas. Se ha postulado que los desequilibrios hormonales durante el embarazo y después de la menopausia podrían contribuir a la interacción de las enfermedades. Se sugiere que una compleja interacción entre el sistema endocrino y el sistema inmunitario está implicada en la manifestación de enfermedades autoinmunes comunes.

Se cree que las propiedades inmunorreguladoras de las hormonas sexuales como el estrógeno influyen en los perfiles clínicos de los sujetos con Lupus, con mayores niveles de estrógenos que favorecen el lupus y niveles bajos de estrógenos que favorecen la artritis reumatoide.

Del mismo modo, factores ambientales tales como eventos estresantes de la vida, fumar, dieta, radiación ultravioleta y lesiones químicas o mecánicas pueden desencadenar, agravar e influir en la gravedad y el curso de estas enfermedades.

No se conoce con exactitud la patogénesis de Lupus.

Los linfocitos CD4 tienen un papel principal en la patogénesis de artritis reumatoide y lupus eritematoso. Existen 3 subtipos principales de linfocitos CD4, los linfocitos TH1, TH2 y TH17. Estos subtipos de linfocitos surgen de los linfocitos T vírgenes CD4, sobretodo en respuesta a citocinas. Las citocinas actúan sobre los linfocitos T estimulados por el antígeno para inducir la transcripción de genes de citocinas que son característicos de la

diferenciación hacia cada subgrupo. (Zhu J, 2010).

La diferenciación TH1 la dirigen las citocinas IL-12 e IFN-gamma las cuales activan los factores de transcripción T-bet, STAT1 y STAT4. T-bet promueve entonces la producción de interferón gamma, IL-2 y factor de necrosis tumoral beta. La diferenciación TH2 la estimula la citocina IL-4, la cual activa el factor de transcripción STAT-6 que junto con las señales del receptor de células T, induce la expresión de GATA-3. GATA-3 aumenta la expresión de los genes de citocinas IL-4, IL-5 e IL-13. (Zhu J, 2010).

El desarrollo de los linfocitos TH17 lo estimulan citocinas proinflamatorias producidas en respuesta a bacterias y hongos como IL-6, IL-1, IL-23 y el factor de crecimiento transformador B (TGF-B). El desarrollo de los linfocitos TH17 depende de los factores de transcripción ROR gamma T y STAT 3. ROR gamma T, es miembro de la familia de receptores para el ácido retinoico y aumenta la expresión de los genes de citocinas IL-17, IL-22 e IL-21. (Roelevend DM, 2015) (Zhu J, 2010). En general la artritis reumatoide se considera una enfermedad mediada por linfocitos CD4 subtipo TH1 y TH17, mientras que el lupus eritematoso generalmente es mediado por linfocitos CD4 TH2. Aunque también se ha encontrado involucro de la vía TH17 en pacientes con lupus eritematoso, los cuales tienen niveles séricos elevados de IL-17 de forma constitutiva. Se han encontrado también niveles séricos más altos de IL-17 en pacientes con involucro de sistema nervioso y en biopsias de piel y riñón de pacientes con LES. Algunos estudios han sugerido que los neutrófilos liberan IL-17 cuando desarrollan netosis. Por otra parte, estudios en murinos han encontrado que el eje IL-23/IL-17 incrementa la actividad de linfocitos B autoreactivos,

aumentando los niveles de autoanticuerpos como anti nucleares, anti Ro52 y anti DNA, de depósito de complejos inmunes y C3 en glomérulos (Martin JC, 2014).

Planteamiento del problema

A pesar de la falta de aceptación de Lupus como entidad nosológica o síndrome de superposición, además de la baja incidencia de la enfermedad, ha limitado el mayor conocimiento de ella, desconociéndose aún mucho de su patogenia, incluyendo la presencia de linfocitos senescentes en pacientes con esta entidad, comparado con paciente lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y controles sanos.

Justificación

Se conoce muy poco acerca del modelo fisiopatológico en Lupus y se desconoce la prevalencia de los linfocitos senescentes con esta entidad, mucho menos se sabe el comparativo con enfermedades como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos.

Pregunta

¿Cuál es la expresión de linfocitos senescentes y factores de transcripción en pacientes con Lupus, en comparación con pacientes con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos?

Hipótesis

Hipótesis alterna

Existe diferencia en la expresión de linfocitos senescentes y factores de transcripción en paciente con Rupus, en comparación con paciente con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos.

Hipótesis nula

No existe diferencia en la expresión de linfocitos senescentes y factores de transcripción en paciente con Rupus, en comparación con paciente con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos.

Objetivos

Objetivo general

Determinar si existe diferencia en la expresión de linfocitos senescentes y factores de transcripción en pacientes con Rupus, en comparación con pacientes con artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos.

Objetivos particulares

-Analizar las variables clínicas y serológicas de los pacientes con Rupus, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos

-Describir y comparar el perfil de anticuerpos en pacientes con Rupus, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y controles sanos

Material y métodos

Diseño del estudio

Se trata de un estudio transversal, comparativo y analítico en el cual se incluyó a pacientes con Rupus, artritis reumatoide, lupus eritematoso y controles sanos, en seguimiento en la consulta externa del departamento de Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología, Dr. Ignacio Chavez.

Población del estudio

Pacientes ambulatorios, con diagnóstico confirmado de Rupus, artritis reumatoide, Lupus eritematoso y sanos que se encuentran en seguimiento en la consulta externa del departamento de Reumatología del Instituto Nacional de Cardiología, Dr. Ignacio Chávez.

Criterios de selección

a) Criterios de inclusión:

Grupo con Rupus: Pacientes que reunieron los criterio de SLICC SLE

DEL 2012 y que además reunieran los criterios de ACR/EULAR 2010 para artritis reumatoide.

Grupo de artritis reumatoide: Pacientes que reunieran los criterios de ACR/EULAR 2010 para artritis reumatoide.

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

Grupo de controles sanos: Sin ninguna enfermedad conocida.

b) Criterios de exclusión:

En ambos grupos: Pacientes que tuvieran infecciones activas de cualquier tipo y portadores de hepatitis B, C o virus de inmunodeficiencia humana.

Pacientes que no reunieran los criterios de clasificación descritos en criterios de inclusión.

Pacientes portadores de neoplasias de cualquier tipo.

Procedimientos

A la población de pacientes seleccionados en ambos grupos se le realizó una toma de sangre venosa. El tiempo aproximado de la toma de muestra fue de 5 minutos. Posteriormente se determinaron citometría, el número de linfocitos CD4+CD28 null y los factores de transcripción ROR-gamma T, T-Bet y GATA-3.

En ambos grupos de pacientes se realizó exploración física y se registró el SLEDAI 2k al momento de la muestra, y en el caso de pacientes con artritis reumatoide y Lupus también se registró DAS 28.

Se documentó edad, género, y se tomaron del expediente clínico el tiempo de evolución de la enfermedad, la última determinación de anticuerpos reportada incluyendo anticuerpos antinucleares, anti-DNA por ELISA y C. Lucilae, anti Sm, anti RNP, anti Ro, anti La, antifosfolípidos, factor Reumatoide y anti PCC. En caso de contar únicamente con determinación cualitativa, se documentó positividad o negatividad.

Variables

-Edad

- Género
- Tiempo de evolución
- índices de actividad: DAS 28 y SLEDAI 2k
- Diagnóstico de Rupus, artritis reumatoide, lupus eritematoso o sano.
- factor reumatoide
- anti -CCP
- Anticuerpos antinucleares con especificidades
- antifosfolípidos
- Total de células CD4 + CD28 null
- Total de células CD4+CD28 null que expresan ROR gamma T, T-bet y GATA 3.
- Porcentaje de células CD4+CD28 null que expresan ROR gamma T, T-bet o GATA 3.

Implicaciones Bioéticas

Se explicó de forma clara a los participantes el procedimiento de toma de muestras y valoración clínica. Los pacientes decidieron participar de forma libre y firmaron un consentimiento informado. Hubo total confidencialidad en la identidad y datos de cada paciente.

Análisis Estadístico

Se utilizaron porcentajes para describir las variables dimensionales, mientras que se para las variables categóricas se utilizaron promedios y desviación estándar. Las diferencias entre grupos se buscaron mediante la prueba

exacta de Fisher y se fijo un valor de significancia estadística de <0.05 .

Resultados

TABLA 1

Variables generales y perfil de anticuerpos	Pacientes				p- value
	Rhupus	Artritis reumatoide	Lupus eritematoso sistémico	Sanos	
Edad	49.4 (+/- 11.25 DE)	33.3 (+/- 8.1 DE)	35.3 (+/- 11.25 DE)	32.4 (+/- 3.5 DE)	0.042
Género (mujeres)	9/10 (90%)	8/8 (100%)	8/8 (100%)	5/9 (55%)	0.607
SLEDAI 2K	1.7 (+/- 2.83 DE)	N/A	1 (+/- 2.13 DE)	N/A	0.505
DAS-28 (3 ítems, PCR)	1.97 (+/- 0.5418 DE)	3.4 (+/- 1.9 DE)	N/A	N/A	0.269
Tiempo de evolución (años)	12.9 (+/- 8.39 DE)	10.8 (+/- 6.3 DE)	5.7 (+/- 4.8 DE)	N/A	0.118
Factor reumatoide, +	7/10 (70%)	7/8 (87%)	1/3 (33%)	0/9 (0%)	0.45
Anti-CCP, +	9/10 (90%)	5/8 (62%)	0/2 (0%)	0/9 (0%)	1
Anticuerpos antinucleares, +	10/10 (100%)	1/2 (50%)	8/8 (100%)	0/9 (0%)	0.999
Anti DNA (C. luciliae), +	5/10 (50%)	0/10 (0%)	6/8 (75%)	0/9 (0%)	0.999
Anti Sm, +	0/10 (0%)	0/10 (0%)	4/8 (50%)	0/9 (0%)	0.029
Anti RNP, +	1/10 (10%)	0/10 (0%)	5/8 (62%)	0/9 (0%)	0.131
Anti SSA, +	3/10 (30%)	0/10 (0%)	4/8 (50%)	0/9 (0%)	0.999
Anti SSB, +	3/10 (30%)	0/10 (0%)	0/8 (0%)	0/9 (0%)	0.205

Se analizaron 10 pacientes con rupus, 8 con artritis reumatoide, 8 con lupus eritematoso sistémico y 9 controles sanos; fue la edad promedio más joven de las pacientes con Rupus en comparación con las de artritis reumatoide, lupus y los controles sanos; siendo en los 4 grupos pacientes en su mayoría del género femenino; el tiempo de evolución de pacientes con rupus fue mayor que el de pacientes con lupus, artritis reumatoide y los controles sanos; solo los pacientes con rupus y artritis reumatoide tuvieron positivo el anti péptido cíclico citrulinado, en comparación a los grupos de lupus eritematoso sistémico donde ninguno obtuvo este valor (p 0.04); De los anticuerpos medidos en todos los grupos, solo los pacientes con lupus eritematoso sistémico tuvieron positivo el anti Sm en comparación a los otros 3 grupos (p 0.006) y el anti RNP fue positivo en el 10% de los pacientes con rupus y en 62% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico, pero negativo en los controles (p 0.04).

Tabla 2

Célula que expresa	Rupus	Artritis reumatoide	Lupus	P-value
CD4+ cels por 1x10⁶ PBMC, No total	75,866 ±	77,254 ± 73,523	76,622 ±	0.71
	66,214		84,171	
CD4+CD28^{null}% del total CD4+	14.9 ± 12.3	12.3 ± 9.2	14.2 ± 8.2	0.63
CD4+CD28^{null}RORγt+ % del total	53.2 ± 29.0	51.5 ± 26	59.1 ±	0.76
CD4+CD28^{null}			15.0	
CD4+CD28^{null}T-bet+ % del total	43.1 ± 30.6	39.6 ± 28.3	27.2 ±	0.34
CD4+CD28^{null}			15.7	
CD4+CD28^{null}GATA-3+ % del total	5.3 ± 6.0	8.5 ± 10.8	13.6 ±	0.22
CD4+CD28^{null}			15.8	

Se midió por citometría de flujo en pacientes con Rupus, artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico el número de linfocitos CD4+CD28^{null} y los factores de transcripción en este tipo celular, que son ROR gamma T, T-bet y GATA 3.

Al hacer el comparativo no se encontró diferencia estadísticamente significativa en el numero de linfocitos CD4+CD28^{null} tanto el total de leucocitos por millón y subtipos. En los factores de transcripción no hubo diferencia significativa en la expresión entre los 3 grupos, pero si hay una tendencia de mayor expresión de células CD4+CD28^{null} bet+ en pacientes con Rupus en comparación con los otros 2 grupos y mayor tendencia de células CD4+CD28^{null} GATA-3+ en pacientes con lupus que los otros 2 grupos.

Discusión

Actualmente contamos con herramientas suficientes para diagnosticar a pacientes con rhusus. Estos pacientes cumplen con los criterios de clasificación tanto de lupus eritematoso como de artritis reumatoide y en estudios previos se han encontrado marcadores serológicos que ayudan a distinguir a los pacientes con esta patología. Acorde a lo descrito por Amezcua-Guerra L, et al y Damián-Abrego, et al, encontramos en este estudio mayor frecuencia y títulos de anti CCP en pacientes con rhusus en comparación a pacientes con lupus eritematoso lo cual confirma que puede ser un marcador importante para identificar casos de rhusus.

No encontramos ningún otro anticuerpo o variable que pudiera ser de utilidad como marcador sérico de pacientes con rhusus.

En cuanto al número total de linfocitos CD4+CD28 null, se encontró que ambas patologías tanto rhusus como lupus eritematoso tienen un número importante de estos linfocitos en sangre. Acorde a la teoría del estudio de Yang D, et al podemos reafirmar que los linfocitos CD4+ NKG2D + que observaron en pacientes con lupus eritematoso, pueden ser parte de este grupo de linfocitos CD4+CD28 null.

Conocemos por estudios diversos que el lupus eritematoso es una enfermedad de predominio de linfocitos CD4 subtipo TH2 y recientemente se ha comprobado el involucro importante de TH17 y que la artritis reumatoide es una enfermedad de predominio TH1 y TH17. No se habían identificado previamente los factores de transcripción ROR gamma T, T-bet y GATA-3 en

linfocitos CD4+CD28 null. En este estudio encontramos que los pacientes con lupus eritematoso tienen una mayor expresión de GATA 3 a diferencia de los pacientes con rhusus.

La siguiente pregunta sería ¿que papel tienen estos linfocitos CD4+CD28 null con expresión de GATA3 positivo en las características clínicas y actividad de lupus eritematoso? y si ¿el bajo porcentaje de expresión de GATA 3 en los linfocitos CD4+ CD28 null de los pacientes con rhusus protege de manifestaciones graves de lupus eritematoso o da ciertas características a estos pacientes?

Después de la descripción de inmunosenescencia temprana en enfermedades autoinmunes y del involucro de los linfocitos CD4+ CD28 null en la patogéna de estas enfermedades, se están llevando a cabo estudios para encontrar moléculas que puedan ser dirigidas específicamente a estos linfocitos. En el estudio de Warrington, et al, se indujo la expresión nuevamente de CD28 en los linfocitos por medio de IL-12. En artritis reumatoide se han identificado citocinas liberadas por los linfocitos CD4+CD28 null como IL-2 y TNF alfa. (Michel JJ, 2007) los anti- TNF han demostrado aumentar la expresión de CD28 en los linfocitos que ya habían perdido el marcador y algunos estudios sugieren que el porcentaje de linfocitos CD4+ CD28 null basal puede predecir la respuesta a anti TNF y a abatacept. (Scarsi M, 2011).

Las debilidades de este estudio fueron el número pequeño de pacientes incluidos y la falta de comparación e inclusión de pacientes con artritis reumatoide y controles sanos lo cual podría darnos información más completa sobre la diferencia entre pacientes con artritis reumatoide, lupus

eritematoso y rhus. No se incluyeron algunas variables que pueden ser de utilidad como marcadores de inflamación y tratamiento que recibe cada paciente.

Conclusiones

1. No hay diferencia en la expresión de linfocitos senescentes en pacientes con rupus, artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico.
2. Hay una tendencia de mayor expresión en porcentaje de células CD4+CD28null bet+ en pacientes con rupus en comparación con los otros 2 grupos y de células CD4+CD28null GATA-3+ en pacientes con lupus que los otros 2 grupos.
3. Los pacientes con artritis reumatoide y rupus tiene mayores títulos de anticuerpos que en comparación con los de lupus eritematoso sistémico.
4. Hay mayor expresión de anti Sm y anti RNP en pacientes con lupus eritematoso sistémico, lo cual su presencia puede ser indicador serológico para descartar rupus y artritis.

Fuentes de información

-Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, funovits J, Felson DT, Bigham CO, et al.

2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. *Semin Arthritis Rheum.*

2010; 62: 2569-81.

-Amezcu-Guerra L, Márquez-Velasco R, Bojalil R. Erosive arthritis in

systemica lupus erythematosus is associated with high serum C- reactive

protein anti anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. *Inflamm res.* 2008; 57:

555-7.

-Bieke B, Markovic-Plese S, Stinissen P, Hellings N. Pathogenic features of

CD4+CD28- T cells in immune disorders. *Trends Mol Med.* 2012; 18:446-53.

-Damián-Abrego GN, Cabiedes J, Cabral AR. Anti-citrullinated peptide

antibodies in lupus patients with or without deforming arthropathy. *Lupus.*

2008; 17: 300-4.

-Goronzy JJ, Shao L, Weyand C. immune Aging and Rheumatoid Arthritis.

Rheum Dis Clin N Am. 2010; 36:297-310.

-Liu T, Li G, Mu R, Ye H, Li W, Li Z. Clinical and laboratory profiles of Lupus

syndrome in chinese population: a single centre study of 51 patients. *Lupus*

2014;23:958-63.

-Martin JC, Baelen D, Josier R. Emerging role of IL-17 and TH17 cells in

Michel JJ, Turesson C, Lemster B, Atkins SR, Iclozan C, Bongartz T, et al.

CD56-expressing T cells that have features of senescence are expanded in

rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007; 56, 43-57

- Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al.

Derivation and Validation of Systemic Lupus International Collaborating Clinics Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012; 64: 2677-86.

-Pipili C, Sfritzeri A, Cholongitas E. Deforming arthropathy in systemic lupus erythematosus. *Eur J Intern Med* 2008;19:482-7.

-Roelevend DM, Koenders LI. The role of the Th17 cytokines IL-17 and IL-22 in Rheumatoid Arthritis pathogenesis and developments in cytokine immunotherapy. *Cytokine.* 2015;74:101-7.

-Scarsi M, Ziglioli T, Airo P. Baseline numbers of circulating CD28-negative T cells may predict clinical response to abatacept in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 2011; 38: 2105–11.

-Shih-Chang L, Chian-Chen K, Li-Jing L. Profiling the expression of interleukin (IL)-28 and IL-28 receptor in systemic lupus erythematosus. *Eur J Clin Invest.* 2012;42:61-9.

Tani C, D'Aniello D, Delle Seide A, Carli A, Cagnoni M, Carbone M, et al. Lupus 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.

-Warrington KJ, Vallejo AN, Weyand CM, Goronzy JJ. CD28 loss in senescent CD4+ T cells: reversal by interleukin-12 stimulation. *Blood.* 2003; 101: 3543–9.

-Yang D, Wang H, Ni B, He Y, Li J, Tang Y, et al. Mutual activation of CD4+ T cells and monocytes mediated by NKG2D-MIC interaction requires IFN-

gamma production in systemic lupus erythematosus. *Mol. Immunol.* 2009; 46: 1432-42.

-Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4 T Cell Populations. *Annu Rev Immunol.* 2010; 28: 445-89.