



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN**

**“SALVADOR ZUBIRÁN”**

**“RELACIÓN ENTRE NIVELES DE VITAMINA D Y ANTICUERPOS ANTI-PÉPTIDO  
CÍCLICO CITRULINADO EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE”**

**TESIS DE POSGRADO**

**PARA OBTENER EL GRADO DE  
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

**PRESENTA**

**ANA BARRERA VARGAS**

**ASESORES**

**DRA. DIANA GÓMEZ MARTÍN**

**DR. JORGE ALCOZER VARELA**





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.

**AUTORIZACIÓN DE TESIS**

**DRA. DIANA GÓMEZ MARTÍN**

MÉDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE REUMATOLOGÍA E INMUNOLOGÍA DEL INCMNSZ

**DR. JORGE ALCOCER VARELA**

DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE REUMATOLOGÍA E INMUNOLOGÍA DEL INCMNSZ

**DR. ALFONSO GULÍAS HERRERO**

PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE MEDICINA INTERNA DEL INCMNSZ

**DR. LUIS FEDERICO USCANGA DOMÍNGUEZ**

JEFE DE ENSEÑANZA DEL INCMNSZ

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
Introducción	3
Planteamiento del problema y justificación	11
Objetivos	11
Material y métodos	12
Resultados	13
Discusión y conclusiones	14
Anexos	16
Bibliografías	21

## INTRODUCCIÓN

### ARTRITIS REUMATOIDE Y ANTICUERPOS ANTI-PÉPTIDO CÍCLICO CITRULINADO

La artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria sistémica progresiva caracterizada por poliartritis crónica y erosiva. Constituye el padecimiento articular inflamatorio crónico más prevalente a nivel mundial, ya que afecta del 0.5 al 1% de la población adulta. La morbilidad y mortalidad que ésta ocasiona se deben a procesos inflamatorios locales y sistémicos que dañan cartílago, hueso y tejidos blandos, así como vasos sanguíneos y algunos órganos.

Se considera a la artritis reumatoide como una enfermedad autoinmune y hay diversos autoanticuerpos relacionados a ésta, destacando el factor reumatoide (anticuerpos contra la fracción Fc de la IgG). En los últimos años se han descrito nuevos autoanticuerpos, entre éstos anticuerpos contra proteínas citrulinadas, como filagrina y su forma circular (péptidos cíclicos citrulinados o PCC).

Estos últimos anticuerpos son muy específicos para la artritis reumatoide (se han reportado especificidades de hasta 98%, con sensibilidad que oscila entre 64 y 89% con los ensayos de laboratorio de segunda generación) (1,2). Se ha demostrado que algunos factores genéticos relacionados a artritis reumatoide pueden estar asociados a la producción de proteínas citrulinadas y los anticuerpos dirigidos hacia ellos. La reactividad contra las proteínas citrulinadas puede estar involucrada en la patogénesis de la enfermedad.

Los anticuerpos anti-PCC se producen de manera más importante en la sinovia que en la periferia, lo cual orienta a que las proteínas citrulinadas se encuentran en la sinovia cuando hay inflamación debido a artritis reumatoide. La presencia de células plasmáticas que producen anticuerpos anti-PCC en la sinovia indica que la maduración de dichas células B es dirigida por la presencia del antígeno en el sitio de inflamación de la artritis reumatoide (3).

La citrulinación es una modificación postraducciona que se basa en la conversión de residuos de arginina a citrulina por unas enzimas llamadas desaminasas de peptidilarginina (PAD), de los cuales hay cinco tipos. Éstas se pueden activar cuando hay muerte celular (por ejemplo, en casos de trauma o inflamación). En la sinovia hay diversas proteínas susceptibles a ser citrulinadas. Se ha considerado que la fibrina, la filagrina y la vimentina, al ser citrulinadas, podrían funcionar como autoantígenos en la artritis reumatoide (1). Se ha visto que personas con cierto haplotipo de

PAD4 tienen mayor producción y actividad de la enzima, lo cual ocasionaría mayor citrulinación. Estas personas tienen una mayor susceptibilidad a padecer artritis reumatoide. Sin embargo, la presencia de péptidos citrulinados en la sinovia no es específica de artritis reumatoide y se puede encontrar en otras enfermedades en las que existe inflamación articular. De igual manera, hay estudios en los que no se ha demostrado relación entre la presencia de antígenos citrulinados en la sinovia con la presencia de anticuerpos anti-PCC. Esto sugiere que la presencia de dichos anticuerpos en los pacientes con artritis reumatoide probablemente se asocia a una respuesta humoral anormal hacia las proteínas citrulinadas. Con respecto a esto, se ha documentado relación entre el haplotipo HLA-DR4 (que confiere predisposición genética a esta enfermedad) y la presencia de anti-PCC. Hay experimentos que demuestran que, cuando existe este haplotipo, hay mayor activación de células T por los péptidos citrulinados que por los péptidos que contienen arginina (3).

No se ha determinado con precisión si los anti-PCC están involucrados en la patogenia de la enfermedad y contribuyen a la inflamación o si más bien son un producto de la inflamación de la sinovia. Existen distintos estudios experimentales con modelos murinos que demuestran una asociación de los anticuerpos con el daño articular (4,5). La sinovitis en pacientes con anti-PCC positivos se ha asociado con un mayor número de linfocitos infiltrando la sinovia y una mayor destrucción local que en los pacientes con anticuerpos negativos (6). Además, se ha demostrado que los anti-PCC activan el complemento por medio de la vía clásica y la alterna y estimulan la respuesta inflamatoria local (7). Sin embargo, continúa habiendo controversia en este tema y se necesitan más estudios para definir claramente el papel de los anti-PCC en la fisiopatología.

Los anti-PCC pueden ser detectados en el suero de pacientes con artritis reumatoide desde etapas tempranas de la enfermedad e incluso antes de que las manifestaciones clínicas de ésta aparezcan, por lo cual han sido considerados con marcador diagnóstico temprano y son útiles para hacer el diagnóstico de artritis reumatoide en personas con artritis inflamatoria inespecífica (1,3). Las personas que tienen una artritis indiferenciada y presentan anticuerpos positivos tienen mayor posibilidad de que dicha artritis sea progresiva, mientras que si los anticuerpos son negativos es más posible que la inflamación articular se autolimita (2).

Hay controversia sobre la relación entre los anti-PCC y la actividad de la enfermedad. Diversos estudios han demostrado la existencia de una relación entre la positividad de anticuerpos y los niveles de la velocidad de sedimentación globular, proteína C reactiva,

inflamación articular y evaluación global de los pacientes (2). Sin embargo, Serdaroglu et al no encontraron relación de los anti-PCC con ninguno de estos parámetros (8). También se ha documentado que los anticuerpos anti-PCC tienen relación con el daño articular, como se ha comprobado al documentar alteraciones radiológicas de las articulaciones en pacientes con títulos altos de anticuerpos o con determinados isotipos de los mismos (2).

Por otro lado, se han realizado estudios para determinar la influencia del tratamiento en estos anticuerpos. En general, se ha encontrado que puede existir una disminución en el título de anticuerpos, pero ésta generalmente no es muy significativa. La mayoría de los pacientes persiste con anticuerpos positivos aún con mejoría clínica. Por lo tanto, se considera que los niveles de anticuerpos no deben guiar las decisiones terapéuticas y hay quien considera que los anti-PCC son marcadores cualitativamente estables de la artritis reumatoide, sin relación con la actividad de la enfermedad (2,9).

## **VITAMINA D Y LA REGULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE**

La vitamina D es un componente esencial en el metabolismo y homeostasis del calcio y fósforo. La vitamina D<sub>3</sub> puede obtenerse por la dieta, pero ésta solo aporta el 20% de los requerimientos del organismo e indudablemente su fuente más importante es la exposición a la radiación ultravioleta. Es hidroxilada en el hígado para formar 25(OH)D<sub>3</sub>, que es considerada la molécula que, al ser medida, indica de manera más confiable las reservas totales de vitamina D en el organismo. Finalmente hay una segunda hidroxilación en el riñón (por medio de la 1- $\alpha$ -hidroxilasa) para obtener 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (dihidroxivitamina D<sub>3</sub> o calcitriol), que es la molécula biológicamente activa. El hecho de que la vitamina D sea producida en el organismo por la exposición a la luz solar y que sea capaz de actuar como un mensajero intercelular indica que más bien se trata de una hormona (10). Actualmente la deficiencia de vitamina D tiene una alta prevalencia a nivel mundial, tanto en países desarrollados como en aquéllos en vías de desarrollo. Se considera que lo anterior puede deberse a deficiencia en el aporte nutricional, a baja exposición a la luz solar y al uso de protectores solares. Se considera que niveles de 25(OH)D<sub>3</sub> por debajo de 20 ng/ml constituyen una deficiencia de vitamina D, mientras que lo óptimo es tener niveles por arriba de 30. Los niveles entre 21 y 29 ng/ml se consideran insuficiencia (11).

El receptor de vitamina D (VDR) forma parte de la superfamilia de receptores nucleares para hormonas esteroideas y es a través de éste que son efectuadas las acciones biológicas de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . El VDR se ha encontrado en tejidos que no tienen relación con la homeostasis del calcio, lo que llevó a suponer que la vitamina D tiene otras funciones en el organismo. Recientemente se ha encontrado relación de esta vitamina con diversas enfermedades autoinmunes, como diabetes mellitus tipo 1 y esclerosis múltiple. Esto coincide con la mayor incidencia de este tipo de enfermedades en mayores latitudes, donde hay menor exposición a la luz solar. Además, en el caso de la esclerosis múltiple, los brotes tienen una importante variación estacional.

En modelos experimentales se ha demostrado que la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  tiene diferentes funciones inmunomoduladoras, tanto en células relacionadas con la inmunidad innata como en aquéllas que participan en la inmunidad adquirida. La regulación inmune es mediada por interferencia con factores de transcripción nuclear (como NF-AT y NF- $\kappa$ B) o por interacción directa con elementos que responden a la vitamina D en las regiones promotoras de genes de algunas citocinas.

El receptor VDR se puede encontrar en las células presentadoras de antígeno (monocitos, macrófagos y células dendríticas), células “natural killer” y linfocitos B y T. A su vez, dichas células pueden producir  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , la cual puede regular la actividad celular de forma autocrina y paracrina, sin tener efectos endocrinos significativos (10,12). La enzima 1- $\alpha$ -hidroxilasa que está presente en las células inmunes es idéntica a la enzima renal, pero la regulación de su expresión y actividad es diferente. Mientras la enzima renal está principalmente regulada por señales del metabolismo óseo y del calcio, en el caso específico de los macrófagos lo más importante son señales inmunológicas, como el IFN- $\gamma$  (13,14). El control de la producción de la hormona biológicamente activa por las mismas células del sistema inmune apoya la relevancia de la vitamina D y el VDR como un sistema inmunomodulador, tanto en procesos fisiológicos como patológicos.

La vitamina D está involucrada en distintos procesos de diferenciación y proliferación celular. Participa de manera relevante en la maduración y activación de los macrófagos. Por un lado, podría potenciar su actividad y contribuir en la defensa que estas células ejercen contra las infecciones bacterianas y el crecimiento de las células tumorales. Esto sería mediado por el factor de transcripción C/EBP $\beta$ , que es básico para dichas actividades de los macrófagos y puede ser



inducido por  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (10). Sin embargo, la vitamina D también inhibe ciertas moléculas inflamatorias, disminuyendo la producción de óxido nítrico y prostaglandina  $\text{E}_2$  (12). Además, disminuye la presentación de antígenos a los linfocitos por medio de la reducción de las moléculas MHC II en su superficie (14). La síntesis de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  por los macrófagos está estrictamente regulada por citocinas y ésta a su vez tiene una importante influencia en la producción y acción de ciertas citocinas, como Stat1 (10).

En el caso de las células dendríticas, la vitamina D ejerce una importante influencia en su diferenciación y su función. Reduce la expresión de las moléculas de MHC II y moléculas coestimuladoras (CD40, CD80 y CD86) en dichas células y también puede favorecer su apoptosis, sobre todo en el caso de las células proinflamatorias. Todo esto disminuye la activación de células T dependiente de las células dendríticas y promueve la tolerancia inmunológica. Además, favorece la activación de células T reguladoras, más que efectoras (12). Se ha demostrado que la estimulación de células dendríticas con agonistas de VDR, aumenta la expresión de ILT3, una molécula inhibidora que está asociada con inducción de la tolerancia. La síntesis local de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  durante los procesos inflamatorios ejerce una regulación negativa, de manera paracrina, sobre la expresión del RelB, un componente de NF- $\kappa\text{B}$ , que es esencial para la diferenciación y maduración de las células dendríticas, así como para la respuesta inflamatoria en sí (12). Esto explica el efecto inhibitorio que ejerce la vitamina D en la maduración de las células dendríticas y en su producción de mediadores proinflamatorios (12).

Por otro lado, la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  tiene efectos directos sobre las células T. Disminuye la función  $\text{T}_\text{H}1$ , que juega un papel fundamental en las enfermedades autoinmunes. Esto es llevado a cabo por medio de mecanismos diferentes a los anteriormente mencionados, al reducir la producción de IFN- $\gamma$ , IL-2 e IL-12 y aumentar la producción de IL-5 e IL-10, y no necesariamente con la participación de las células dendríticas (16). En general, se ha demostrado que la vitamina D favorece el desarrollo de las células  $\text{T}_\text{H}2$  por medio de un efecto directo sobre las células CD4+. Sin embargo, el papel de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en la regulación de IL-4 (una citocina relacionada con la respuesta  $\text{T}_\text{H}2$ ) es controversial. Se ha demostrado que el tratamiento con  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  aumenta la producción de IL-4 *in vivo*. Sin embargo, en otras investigaciones se ha encontrado que, además de haber inhibición de las citocinas  $\text{T}_\text{H}1$ , existe disminución en la producción de las citocinas  $\text{T}_\text{H}2$ , incluyendo a IL-4 (14). En general, las distintas observaciones coinciden en que tanto las células

T<sub>H</sub>1 como las T<sub>H</sub>2 pueden ser blanco de los agonistas de VDR, dependiendo del estado de activación y diferenciación de la célula T.

Las células T<sub>H</sub>17 son un subpoblación de células CD4+ efectoras, que, al igual que las células T<sub>H</sub>1, están involucradas de manera importante en el desarrollo y/o mantenimiento de diversas enfermedades autoinmunes. Se ha visto que el tratamiento con agonistas del VDR inhibe la producción de IL-17, una citocina pro-inflamatoria que es producida por las T<sub>H</sub>17 en distintos modelos de autoinmunidad específica de ciertos órganos (como el cerebro, corazón, sinovia e intestino). IL-23 es otra citocina que está estrechamente relacionada con las células T<sub>H</sub>17, ya que favorece su diferenciación y supervivencia, además de que estimula la producción de IL-17 (17). Uno de los componentes de IL-23 es la subunidad p40, cuya síntesis es inhibida de forma significativa por los agonistas del VDR (16).

Por lo tanto, se puede concluir que los agonistas de VDR principalmente inhiben a las células T proinflamatorias y patogénicas, como T<sub>H</sub>1 y T<sub>H</sub>17 y, bajo las condiciones apropiadas, favorecen una diferenciación hacia T<sub>H</sub>2. Estos efectos pueden ser parcialmente atribuibles a la acción directa de los agonistas sobre las células T, pero también a la acción que se ejerce sobre ellas por medio de las células dendríticas. Entonces, los agonistas de VDR actúan sobre las células T tanto de manera directa como indirecta, inhibiendo de manera selectiva las subpoblaciones involucradas en la inflamación crónica y el daño tisular.

También se ha reportado que la vitamina D es capaz de regular a los linfocitos B, inhibiendo la proliferación e induciendo su apoptosis. Además, la generación de células plasmáticas y células B de memoria fue significativamente inhibida por la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (16). Además, se ha observado que la vitamina D inhibe la secreción de anticuerpos y la producción de autoanticuerpos (18,19). Las células B expresan RNA mensajero para proteínas relacionadas con la actividad de la vitamina D, incluyendo la 1- $\alpha$ -hidroxilasa y el VDR, las cuales son reguladas por la misma 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> y/o por la activación celular.

Aun cuando los efectos de la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> sobre el sistema inmune parecen contribuir a su supresión, no se ha visto mayor susceptibilidad a infección debido a la exposición a esta vitamina (por ejemplo, a herpes virus o *Candida*). Incluso se ha visto relación entre deficiencia de vitamina D y casos de tuberculosis. Se considera que esto último puede estar relacionado a la estimulación de ciertos procesos de la inmunidad innata. Además, estados relacionados con deficiencia

significativa de vitamina D, como el raquitismo y la insuficiencia renal crónica, tienen una alta tasa de complicaciones infecciosas.

## **ARTRITIS REUMATOIDE Y VITAMINA D**

En el caso específico de la artritis reumatoide, se ha detectado  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en el líquido sinovial de las articulaciones inflamadas. Asimismo, se ha reportado la expresión de VDR (el cual no se encuentra en las sinovias normales) en los fibroblastos, macrófagos, linfocitos, condrocitos y células endoteliales de las lesiones reumatoides (20).

Las prostaglandinas están involucradas en el proceso inflamatorio asociado con la artritis reumatoide. Al administrar tratamiento con vitamina D, la síntesis de prostaglandina  $\text{E}_2$  estimulada por IL-1 se inhibe de manera importante. De igual manera, la producción de metaloproteinasas (las cuales causan importante daño al cartílago) estimulada por IL-1 disminuye al administrar vitamina D. Por otro lado, en un modelo murino se encontró que el VDR tiene un importante papel para limitar la respuesta inflamatoria de la artritis reumatoide. Al utilizar ratones deficientes de VDR, se encontró un importante aumento de monocitos en la sinovia. Esto se asoció a un aumento significativo en la inflamación, daño al cartílago y erosiones óseas en comparación con los ratones que sí expresaban el receptor (21). El mecanismo molecular por el cual el VDR participa en estos procesos no ha sido definido.

Se ha visto relación entre diferentes factores de la enfermedad y los niveles de vitamina D. Se han documentado niveles disminuidos de vitamina D en pacientes con artritis reumatoide en comparación con controles en diferentes poblaciones y latitudes. La prevalencia de deficiencia de vitamina D en estos pacientes se ha reportado entre 30 y 63% en distintos estudios (22). No obstante, es importante tomar en cuenta que las personas con artritis reumatoide pueden tener cierta limitación física y, por lo tanto, menor actividad al aire libre y menor exposición a la luz solar (23). En relación a esto último, Rossini et al realizaron un estudio en el que encontraron que los niveles de  $25(\text{OH})\text{D}_3$  fueron más bajos en pacientes con mayor actividad de la enfermedad y menor respuesta al tratamiento. Estos resultados permanecieron significativos aún después de ajustarlos al tiempo de exposición solar (22). Al estudiar una cohorte de 29,368 mujeres, se encontró relación inversa entre la ingesta de vitamina D y el riesgo de padecer artritis reumatoide (24). Sin embargo, otros estudios de cohorte no han encontrado esta relación. Un estudio realizado en

mujeres europeas encontró una relación inversa entre los niveles de la vitamina y la actividad de la enfermedad (determinada por la escala DAS 28, que toma en cuenta el número de articulaciones afectadas) (25). Se han realizado otros ensayos clínicos en distintas poblaciones europeas en los que ha existido una relación inversa entre los niveles de vitamina D y la actividad de la artritis reumatoide (23). Sin embargo, también existen estudios que no han encontrado una asociación significativa entre esas dos variables (26).

Existe controversia en cuanto a la suplementación de vitamina D como parte del tratamiento de la artritis reumatoide. En modelos de experimentación con animales se encontró que la progresión de la artritis temprana disminuyó con la administración de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (27). En un estudio de etiqueta abierta en el cual participaron 19 pacientes con artritis reumatoide, el tratamiento con alfacalcidol ( $1\alpha$  hidroxivitamina D<sub>3</sub>) tuvo un efecto positivo en relación a la actividad de la enfermedad en 89% de los pacientes (28). Por otro lado, un estudio realizado con 117 mujeres mostró una mejoría no significativa en la actividad articular al administrar vitamina D contra placebo por 12 semanas (29).

Recientemente se le ha dado importancia al papel de las células  $T_H17$  en el desarrollo de la artritis reumatoide y en el daño articular y óseo que provocan, sobre todo por medio de la producción de IL-17A. Además favorecen la producción de metaloproteinasas y la proliferación de los osteoclastos, lo cual puede contribuir a la destrucción del cartílago y del hueso (17). Colin et al encontraron que la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  inhibía la producción de IL-17A y estimulaba la IL-4 en pacientes con artritis temprana. Además, la vitamina D potenciaba la acción inhibitoria de la dexametasona sobre la IL-17A y, de manera directa, modulaba la polarización de las  $T_H17$ , suprimiendo la síntesis de ciertas citocinas. Basados en estos hallazgos, los autores sugieren prescribir suplementos de vitamina D a los pacientes que toman corticosteroides con el fin de prevenir la osteoporosis por medio del efecto directo sobre el hueso y al regular el balance entre  $T_H1/T_H17$  y  $T_H2$  (30).

Actualmente existe evidencia epidemiológica que indica una asociación significativa entre la deficiencia de vitamina D y una incidencia aumentada de enfermedades autoinmunes. Además, existe la evidencia a nivel celular y molecular de los efectos de dicha vitamina sobre el sistema inmune. Por todo lo anteriormente expuesto se plantea que la deficiencia de vitamina D puede asociarse a múltiples alteraciones tanto en la respuesta celular como humoral, por lo que los niveles de esta vitamina pueden correlacionar con los niveles de autoanticuerpos (anti-PCC) en pacientes con artritis reumatoide.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN**

Se ha demostrado que los pacientes con artritis reumatoide tienen mayor incidencia de deficiencia de vitamina D que la población general. Aun cuando la vitamina D tiene ciertas propiedades inmunoregulatoras, no se ha evaluado a detalle si esta asociación tiene una relevancia fisiopatogénica, ya sea para el desarrollo o para la progresión de la enfermedad. Los anticuerpos anti-PCC son altamente específicos para la artritis reumatoide, están relacionados con la gravedad de la enfermedad y probablemente están involucrados en su patogénesis. De existir una correlación entre los niveles de vitamina D y los anticuerpos anti-PCC, esto podría sugerir que la inducción de la citrulinación es otro de los mecanismos inmunomoduladores de la vitamina D. Se ha encontrado que la vitamina D participa de manera importante en la regulación de inflamación y se ha demostrado que un ambiente proinflamatorio puede incrementar la citrulinación. Por lo tanto, la vitamina D podría estar relacionada con una respuesta humoral autoreactiva. Los hallazgos de este estudio no sólo son de gran relevancia dentro del esquema fisiopatogénico de la enfermedad, sino que tiene implicación terapéutica. La sustitución con vitamina D (u otros análogos del VDR que no tuvieran efectos sobre el metabolismo del calcio) podría constituir una estrategia terapéutica para suprimir la actividad de la enfermedad y disminuir sus complicaciones crónicas, tanto en relación al daño articular, como al incremento en el riesgo de la morbi-mortalidad cardiovascular en pacientes con artritis reumatoide. Esto podría ser extrapolado potencialmente a otras enfermedades autoinmunes, tanto sistémicas (lupus eritematoso generalizado) como órgano específicas (diabetes mellitus, distiroidismo).

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar si existe correlación entre los niveles séricos de vitamina D y anticuerpos anti péptido cíclico citrulinado en pacientes con artritis reumatoide.

### **OBJETIVOS SECUNDARIOS**

Establecer si existe correlación entre los niveles de vitamina D y marcadores bioquímicos de actividad (velocidad de sedimentación globular, proteína C reactiva).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizó un estudio observacional, transversal. Se incluyeron 30 mujeres mexicanas de 18 a 65 años de edad con diagnóstico reciente de artritis reumatoide (no más de dos años) en base a los criterios del ACR/EULAR que asistieran a la consulta externa del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán". Se excluyeron a mujeres con alteraciones en los niveles de calcio, que tomaran suplementos de calcio o vitamina D o que hubieran tomado glucocorticoides en los últimos seis meses (como probables confusores en relación a los niveles de vitamina D).

A todas las pacientes se les realizó medición de anticuerpos anti-PCC y 25(OH)D<sub>3</sub>, así como determinación de niveles de factor reumatoide, calcio, fósforo, VSG y PCR.

### **Análisis Estadístico**

Las variables se describen en términos de media y desviación estándar o proporciones. La correlación entre variables fue evaluada mediante el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman, según fuera conveniente. Asimismo, se realizó análisis de regresión logística curvilínea con modelo exponencial para evaluar la asociación entre vitamina D y niveles de anti-PCC. Se consideró como significancia estadística un valor de  $p < 0.05$ . El análisis estadístico se realizó con apoyo del software SPSS versión 16.

## RESULTADOS

Entre septiembre de 2010 y julio de 2011 se incluyeron 30 mujeres con el diagnóstico de artritis reumatoide realizado en los dos años previos. El rango de edad fue de los 20 a los 58 años, con una media de 41.2 años.

Los valores de vitamina D fueron de 8 a 32 ng/ml, con una media de 19.3. El 46.6% de las mujeres estudiadas presentó deficiencia de vitamina D (niveles menores a 20), el 50% presentó insuficiencia (niveles menores a 30) y solo una paciente (que representa al 3.3% de la población) presentó niveles normales. En cuanto a los anti-PCC, se documentó una gran dispersión, como se muestra en la gráfica 1. Los valores fueron de 29.7 a 3799 U/ml, con una media de 589. Todas las pacientes tuvieron niveles positivos de anti-PCC (con un punto de corte de 20). Las demás variables estudiadas fueron factor reumatoide, velocidad de sedimentación globular, proteína C reactiva, calcio y fósforo. La tabla 1 muestra las características demográficas, bioquímicas y serológicas de las mujeres estudiadas.

Se estudió la correlación entre las variables de interés por medio del coeficiente de Pearson o Spearman, según el caso. En relación a la vitamina D y los anti-PCC no se encontró una relación lineal, como puede observarse en el diagrama de dispersión de correlación (gráfica 2). Debido a que no se evidenció relación lineal, se realizó un análisis de regresión por medio de estimación curvilínea, en el cual se evalúan diferentes modelos (gráfica 3). El modelo más útil por esta estimación fue el exponencial. La variable dependiente fue el logaritmo natural de los anticuerpos anti-PCC y la variable independiente los niveles de vitamina D. Se encontró una asociación significativa, con una R cuadrada de 0.897, un coeficiente B estandarizado de 0.893 y una  $p$  0.0001.

Los niveles de anti-PCC tuvieron correlación con los del factor reumatoide con una  $r$  de 0.570 y  $p < .006$  (ver gráfica 4). No se encontró correlación entre los niveles de anti-PCC y los marcadores de inflamación (velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva). Tampoco se documentó correlación entre los niveles de factor reumatoide y dichos marcadores (tabla 2).

Se encontró una correlación negativa entre los niveles de calcio y los de velocidad de sedimentación globular ( $r$  -0.612,  $p < .009$ ). También se encontró una correlación positiva entre el fósforo y los niveles de proteína C reactiva ( $r$  0.849,  $p < .004$ ). Ver gráficas 5 y 6.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En los últimos años ha existido una gran controversia sobre la influencia de la vitamina D en padecimientos que no estén relacionadas con el metabolismo óseo y específicamente en las enfermedades autoinmunes. El objetivo de este estudio era determinar si existía relación entre la vitamina D y los anticuerpos anti-PCC, que son específicos de la artritis reumatoide.

No se encontró una relación lineal entre los niveles de vitamina D y los anti-PCC, lo cual puede deberse a diferentes factores. En primer lugar, puede estar asociado al comportamiento biológico y a la variabilidad de los dos factores analizados. Además, se debe tomar en cuenta el hecho de que los valores de anti-PCC tuvieron una gran dispersión. Otra limitante fue el tamaño de la muestra, que fue un número relativamente pequeño. Sin embargo, en el modelo exponencial sí se encontró una asociación significativa, por lo que, para poder determinar con mayor certeza si existe relación entre la vitamina D, los anticuerpos anti-PCC y otros factores de la artritis reumatoide, sería fundamental realizar otro estudio con un tamaño de muestra más grande y en el que se tuviera un grupo control.

Llama la atención la alta prevalencia de insuficiencia y deficiencia de vitamina D en la población estudiada, con 96.6% de las pacientes con niveles por debajo del límite inferior. Esto es mayor a lo reportado en poblaciones sanas (50-80%) y en personas con artritis reumatoide (86%)<sup>i</sup>. En cuanto a la deficiencia, la prevalencia de 46% encontrada coincide con otros reportes en pacientes con artritis reumatoide (11,31,32). Debido a la ausencia de controles sanos, no se puede determinar que esto sea exclusivo de la artritis reumatoide o que esté relacionado con la autoinmunidad. Para poder definir mejor este punto, el estudio se debería enfocar en comparar a mujeres con y sin la enfermedad. Sin embargo, la alta prevalencia de deficiencia de vitamina D apoya la obtención de niveles en las mujeres con el diagnóstico de artritis reumatoide.

En cuanto a los demás resultados, la asociación entre el factor reumatoide y los anti-PCC coincide con lo reportado en la literatura (33,34). La relación entre ellos y los marcadores de inflamación ha sido motivo de controversia, ya que no se ha definido con precisión si sus valores (y la evolución de éstos) está relacionado con la actividad de la enfermedad. Nuestros resultados coinciden con algunos de los estudios previamente reportados en los que no se encuentra asociación significativa entre los valores de estos anticuerpos y la actividad de la enfermedad (8,9,34,35) .



Por otro lado, éste es el primer estudio en el que se encuentra una asociación inversa entre los marcadores de inflamación y los niveles calcio, así como una relación directa con los niveles de fósforo. Esto podría ser un indicador de que la inflamación tiene efecto sobre el metabolismo del calcio y fósforo, posiblemente a través de la hormona paratiroidea (PTH). Un estado inflamatorio (en el cual se incluirían las enfermedades autoinmunes) podría suprimir la hormona paratiroidea, modificando ya sea su producción o su función, lo cual ocasionaría una disminución en el calcio y un aumento en el fósforo. Hay distintos estudios en los que se ha encontrado relación entre los marcadores de inflamación y la hormona paratiroidea. Feroze et al reportaron que la secreción de PTH podía ser suprimida por la IL-1 beta y la IL-6, citocinas inflamatorias, en pacientes en hemodiálisis (36). Por otro lado, Al Awhadi et al encontraron que los niveles de PTH estaban disminuidos en pacientes con artritis reumatoide y enfermedad activa, en comparación con pacientes sin datos de actividad y controles sanos (37). Ekenstam et al también reportaron disminución en la secreción de la PTH en relación a la inflamación en pacientes con artritis reumatoide (38). Estos resultados coincidirían con nuestros hallazgos, pero se deben realizar más estudios diseñados específicamente para corroborar la relación entre estas variables y las implicaciones que ésta podría tener.

Finalmente, aunque existe un sustento teórico de la función de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  en la respuesta inmune, no se ha podido determinar de manera concluyente si existe relación entre los niveles de vitamina D y la actividad de las enfermedades autoinmunes, específicamente la artritis reumatoide. Por un lado, hay estudios que han encontrado relaciones significativas entre los niveles de la vitamina y la actividad de la enfermedad; sin embargo, también existen otros, como lo reportado por Braun-Moscovici et al (26) y lo encontrado en este estudio, en los que dicha relación está ausente. Se ha encontrado un papel definitivo de la vitamina D en diversos aspectos de la respuesta inmune y específicamente en su contribución a la tolerancia inmunológica, por lo cual su déficit está asociado a la ruptura de la misma. Sin embargo, debido a que al darle a este papel una traducción clínica los resultados han sido muy variables, todo parece indicar que la vitamina D no actúa como un factor etiológico en relación la respuesta inmune. Aunque todavía quedan muchos aspectos que definir en esta asociación, parece que el papel de la  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  se basa en el mantenimiento de respuestas que favorecen la respuesta autoinmune patológica y no en la inducción de dicho fenómeno.

## ANEXOS

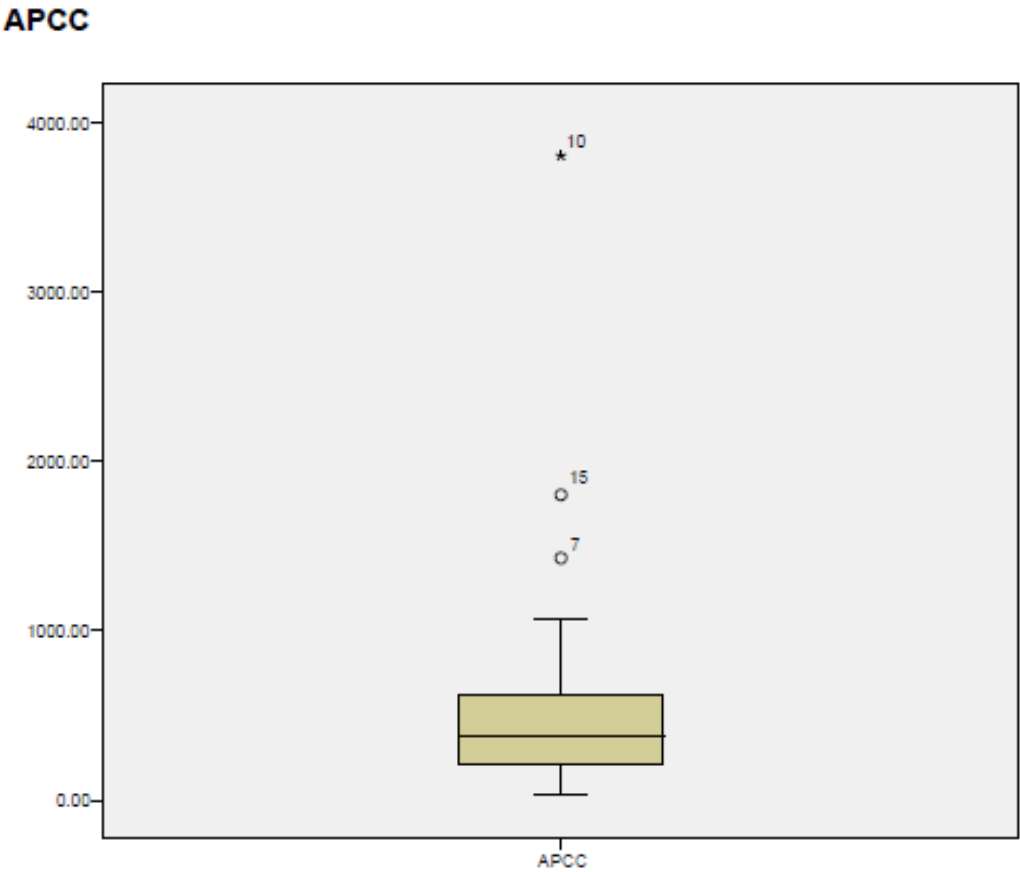
**Tabla 1. Características demográficas, bioquímicas y serológicas.**

Variable	Media	Desviación estándar
Edad	41.27 años	10.44
Vitamina D	19.37 ng/ml	6.01
Anti-PCC	589 U/ml	727.66
Factor reumatoide	538 UI/ml	930.84
Velocidad de sedimentación globular	25 mm/hr	18.29
Proteína C reactiva	3.03 mg/dl	4.79
Calcio	9.21 mg/dl	0.3
Fósforo	3.4 mg/dl	0.59

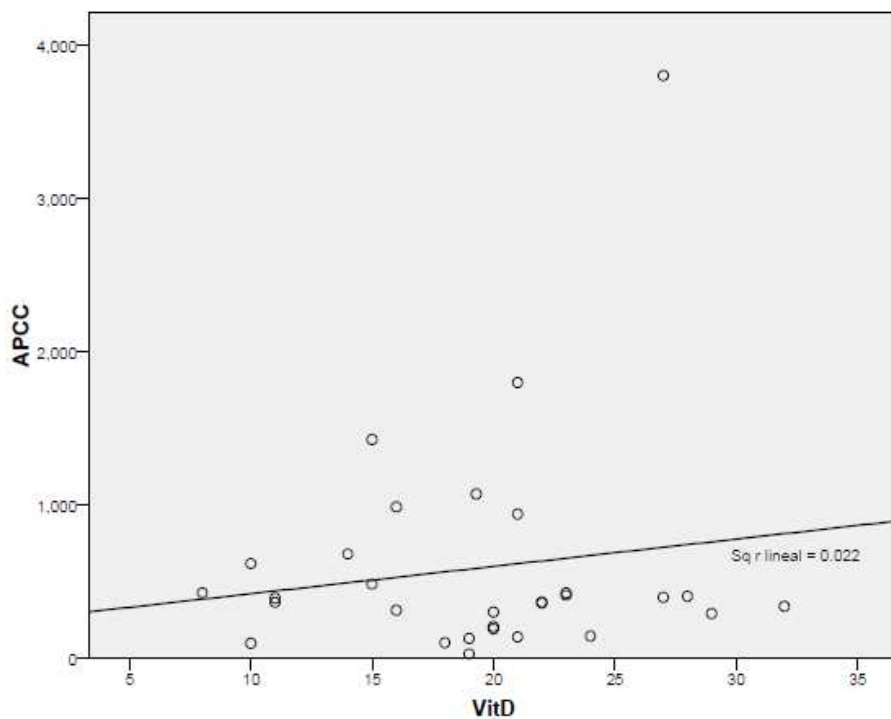
**Tabla 2. Correlación entre anticuerpos anti-PCC, factor reumatoide, velocidad de sedimentación globular y proteína C reactiva**

		Anti-PCC	Factor reumatoide	VSG	PCR
Anti-PCC	Correlación de Pearson (r)	NA	0.570	0.039	0.129
	Significancia (p)		0.006	0.83	0.63
Factor reumatoide	Correlación de Pearson (r)	0.570	NA	0.089	-0.019
	Significancia (p)	0.006		0.70	0.95

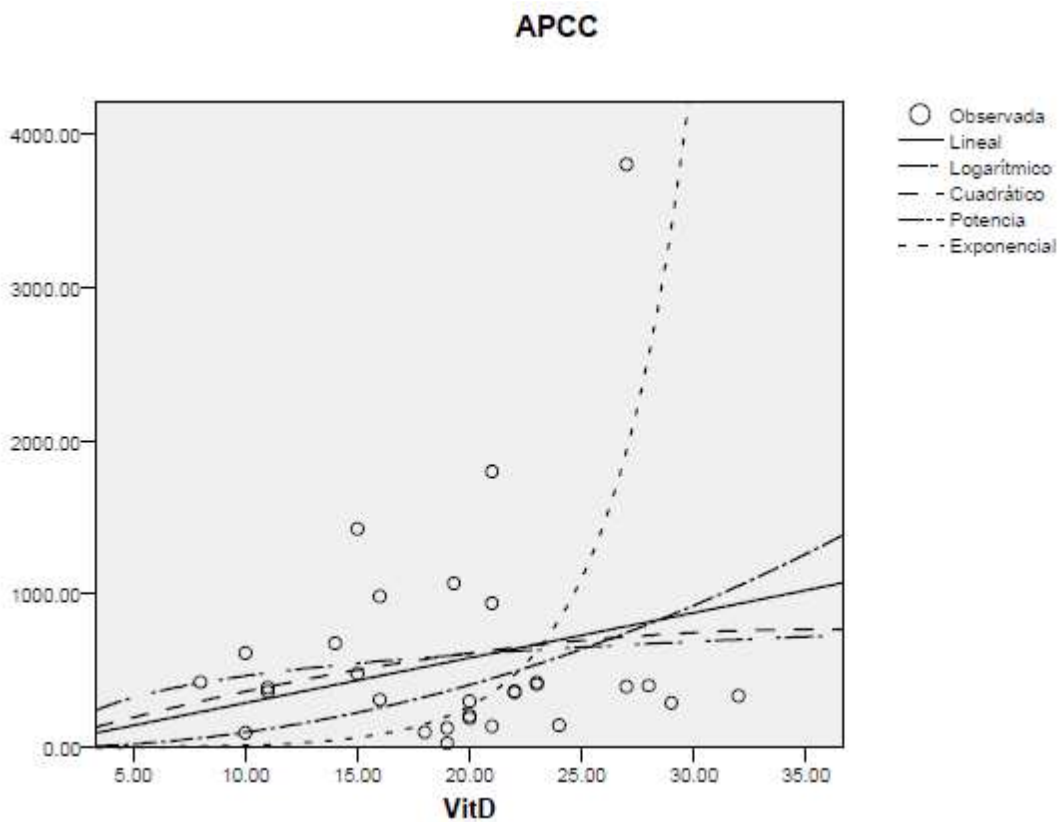
Gráfica 1. Niveles de anti-PCC



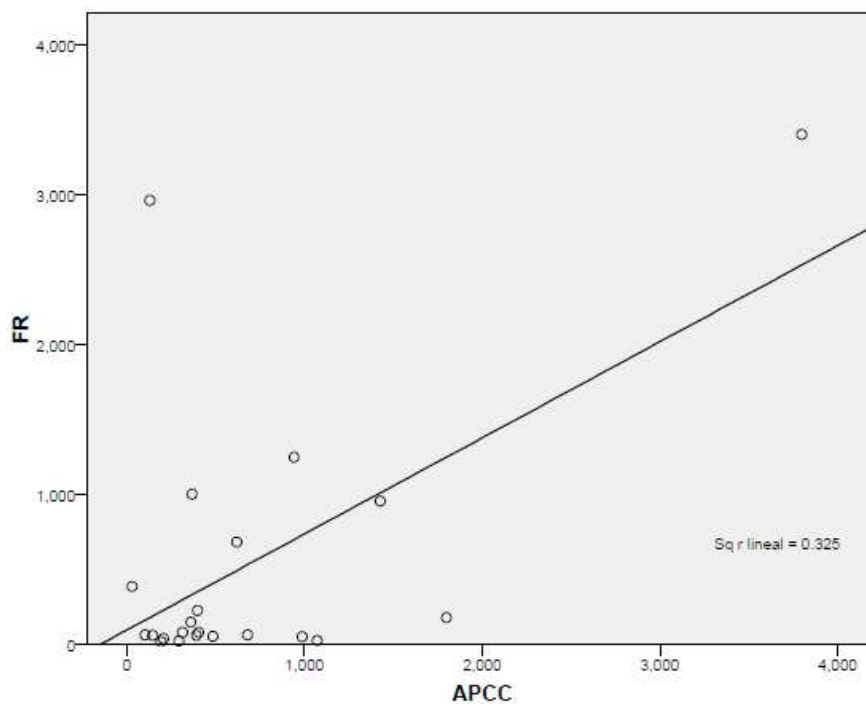
Gráfica 2. Relación lineal entre vitamina D y anti-PCC.



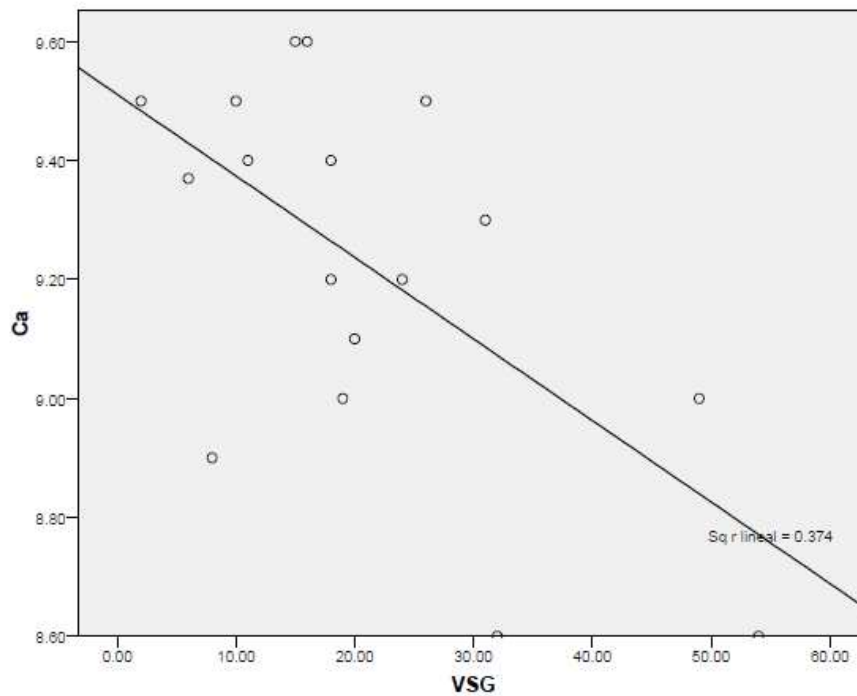
Gráfica 3. Relación entre vitamina D y anti-PCC por medio de diferentes modelos.



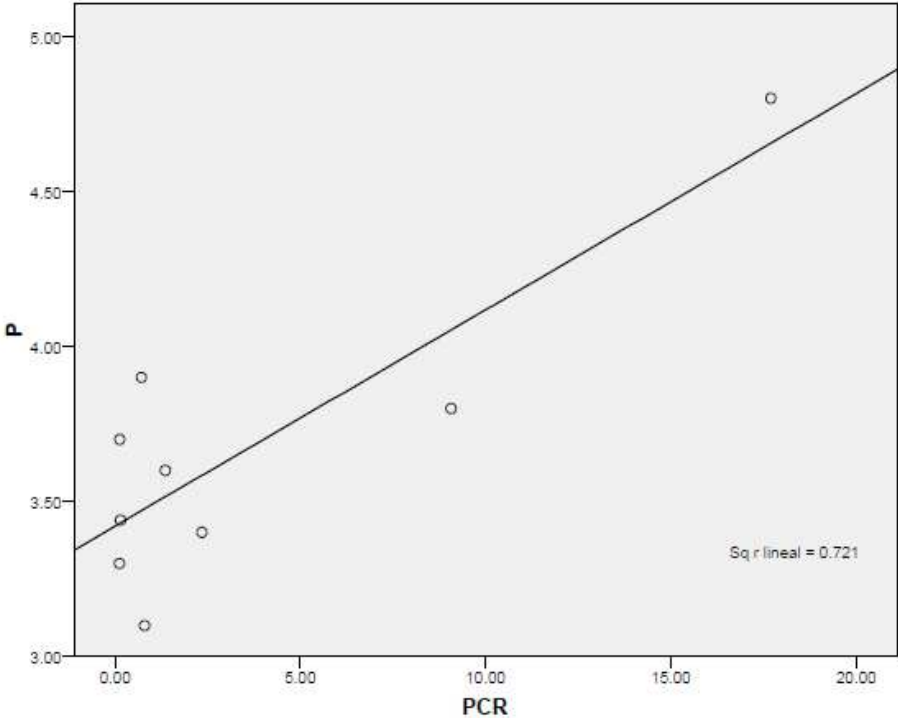
Gráfica 4. Relación entre niveles de factor reumatoide y anticuerpos anti-PCC



Gráfica 5. Relación entre niveles de calcio y velocidad de sedimentación globular



Gráfica 6. Relación entre niveles de fósforo y proteína C reactiva



## BIBLIOGRAFÍA

1. Van Venrooij WJ, et al. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future. *Nat Rev Rheumatol* 2011; 7: 391–398
2. Niewold, et al. Anti-CCP antibody testing as a diagnostic and prognostic tool in rheumatoid arthritis. *Q J Med* 2007; 100:193–201
3. Vossenaar E, van Venrooij WJ. Citrullinated proteins: sparks that may ignite the fire in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004, 6:107-111
4. Lundberg, et al. Citrullinated proteins have increased immunogenicity and arthritogenicity and their presence in arthritic joints correlates with disease severity. *Arthritis Research & Therapy* 2005, 7: R458-R467
5. Kuhn, K. A. et al. Antibodies against citrullinated proteins enhance tissue injury in experimental autoimmune arthritis. *J. Clin. Invest.* 116, 961–973 (2006).
6. van Oosterhout, M. et al. Differences in synovial tissue infiltrates between anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58, 53–60
7. Trouw LA, et al. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies from rheumatoid arthritis patients activate complement via both the classical and alternative pathways. *Arthritis Rheum* 2009; 60, 1923–1931
8. Serdaroglu M, Cakirbay H, Defer O, Cengiz S, Kul S. The association of anti-CCP antibodies with disease activity in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2008; 28:965–970
9. Bos WH, Bartelds GM, Wolbink GJ et al. Differential response of the rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies during adalimumab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2008; 35:1972–1977
10. Dusso A, Brown A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F8–F28.
11. Rossen C. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med* 2011; 364:248-54.
12. Adorini L, Penna G. Control of autoimmune diseases by the vitamin D endocrine system. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2008; 4(8): 404-412
13. Overbergh L, Decallonne B, Valckx D, Verstuyf A, Depovere J, Laureys J, et al. Identification and immune regulation of 25-hydroxyvitamin D-1-alpha-hydroxylase in murine macrophages. *Clin Exp Immunol* 2000;120:139–46.
14. Arnson Y, Amital H, Shoenfeld Y. Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis.* 2007; 66(9):1137-42
15. Dong X et al. Regulation of RelB in dendritic cells by means of modulated association of vitamin D receptor and histone deacetylase 3 with the promoter. 2005
16. Cutolo M. Vitamin D and autoimmune rheumatic diseases. *Rheumatology* 2009; 48:210–212
17. Kurts C. Th17 cells: a third subset of CD4+ T effector cells involved in organ-specific autoimmunity. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 816–819
18. Chen S et al. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol* 2007; 179: 1634–1647

19. Linker-Israeli M, Elstner E, Klinenberg JR, Wallace DJ, Koeffler HP. Vitamin D(3) and its synthetic analogs inhibit the spontaneous in vitro immunoglobulin production by SLE-derived PBMC. *Clin Immunol* 2001; 99:82–93.
20. Tetlow LC, Smith SJ, Mawer EB, et al. Vitamin D receptors in the rheumatoid lesion: expression by chondrocytes, macrophages, and synoviocytes. *Ann Rheum Dis*. 1999; 58:118-121.
21. Zwerina K, et al. Vitamin D receptor regulates TNF-mediated arthritis. *Ann Rheum Dis* 2011; 70:1122–1129
22. Rossini, et al. Vitamin D deficiency in rheumatoid arthritis: prevalence, determinants and associations with disease activity and disability. *Arthritis Res Ther*. 2010; 12(6):R216
23. Wen H, Baker J. Vitamin D, immunoregulation, and rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol* 2011; 17: 102-107
24. Merlino LA et al. Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women’s Health Study. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 72–77
25. Cutolo M, Otsa K, Laas K, et al. Circannual vitamin D serum levels and disease activity in rheumatoid arthritis: Northern versus Southern Europe. *Clin Exp Rheumatol* 2006; 24:702–4.
26. Braun-Moscovici YB, Toledano K, Markovits D, et al. Vitamin D level: is it related to disease activity in inflammatory joint disease? *Rheumatol Int* 2011; 31(4):493-9.
27. Cantorna MT, Hayhes CE, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxycholecalciferol inhibits the progression of arthritis in murine models of human arthritis. *J Nutr* 1998; 128:68–72.
28. Andjelkovic Z, Vojinovic J, Pejnovic N et al. Disease modifying and immunomodulatory effects of high dose 1 alpha (OH) D3 in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17:453–6.
29. Salesi M, Farajzadegan Z. Efficacy of Vitamin D in patients with active rheumatoid arthritis receiving methotrexate therapy. *Rheumatol Int* 2011
30. Colin EM, Asmawidjaja PS, van Hamburg JP, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 modulates Th17 polarization and interleukin-22 expression by memory T cells from patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2010; 62(1):132-142
31. Broder A, et al. Disease-specific definitions of vitamin D deficiency need to be established in autoimmune and non-autoimmune chronic diseases: a retrospective comparison of three chronic diseases. *Arthritis Res Ther* 2010; 12(5):R191
32. Kerr G, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency/deficiency in rheumatoid arthritis and associations with disease severity and activity. *J Rheumatol* 2011; 38:53-59
33. Agrawal S, Misra R, Aggarwal A. Autoantibodies in rheumatoid arthritis: association with severity of disease in established RA. *Clin Rheumatol* 2007; 26(2):201-4.
34. Greiner A, Plischke H, Kellner H, Gruber R. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies, anti-citrullin antibodies, and IgM and IgA rheumatoid factors with serological parameters of disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci*. 2005; 1050:295-303.



35. Ates A, Kinikli G, Turgay M, Akay G, Tokgöz G. Effects of rheumatoid factor isotypes on disease activity and severity in patients with rheumatoid arthritis: a comparative study. *Clin Rheumatol* 2007; 26:538–545
  36. Feroze U, Molnar MZ, Dukupati R, et al. Insights into nutritional and inflammatory aspects of low parathyroid hormone in dialysis patients. *J Ren Nutr* 2011; 21(1):100-4.
  37. Al-Awadhi A, Olusi S, Al-Zaid N, Prabha K. Serum concentrations of interleukin 6, osteocalcin, intact parathyroid hormone, and markers of bone resorption in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1999; 26(6):1250-6.
  38. Ekenstam E, Benson L, Hällgren R, et al. Impaired secretion of parathyroid hormone in patients with rheumatoid arthritis: relationship to inflammatory activity. *Clin Endocrinol* 1990; 32(3):323-8
-