



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

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

---

**“EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DEL FACTOR DE  
CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR Y SU CORRELACIÓN  
CON EL ULTRASONIDO MUSCULOESQUELÉTICO COMO  
MARCADOR PARA VALORAR LA ACTIVIDAD DE LA ARTRITIS  
REUMATOIDE”**

**PRESENTA**

**DR. AMANDO REYES SUÁREZ**

**TESIS DE POSTGRADO**

**PARA OBTENER EL TITULO DE**

**ESPECIALISTA EN  
REUMATOLOGIA**

**DRA. ROSA ELDA BARBOSA COBOS  
ASESORA DE TESIS**

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



**MÉXICO, D.F.**

**2014**



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.

HOJA DE FIRMA

TITULAR DE ENSEÑANZA  
Dr. Carlos Viveros Contreras

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

ASESORA  
Dra. Rosa Elda Barbosa Cobos

NUMERO DE REGISTRO DE TESIS  
HJM2397/14-R

## **DEDICATORIA:**

**A mi padre Amando Reyes Miguel , por que con su ejemplo me enseñó a trabajar y siempre esforzarme por mis objetivos y aunque ya no esta en este mundo siempre vivirá en mi recuerdo .**

**A mi madre Prima Suárez Hernández, por su apoyo incondicional, sus consejos y su comprensión**

**A mi esposa Sonia López Vicente por su amor y apoyo en el logro de mis metas en la vid**

**a y a mi hijo Brian Jhosmar Reyes López por el tiempo que no he estado a su lado A todos mis hermanos y a mi tia por los consejos y apoyo ante las adversidades .**

### **AGRADECIMIENTOS:**

**A mis maestros Dr. Gustavo Esteban Lugo Zamudio , Dra . Rosa Elda Barbosa Cobos , Dra. Anna Sofía Vargas Avilés y la Dra. Lizbeth Teresa Becerril Mendoza por las enseñanzas y consejos proporcionadas durante mi formación como reumatólogo así como la gran oportunidad que me dieron de pertenecer al grupo de reumatología del Hospital Juárez de México**

**A mis compañeros Dr. Raúl Ivan Castillo Castañeda , Dr. Estuardo Anzueto Fortuny, Dr. Antonio Wong Lam , por su apoyo y por su amistad durante nuestra formación como reumatólogos y por contar con ellos en momentos de adversidad.**

**Especial mención al Dr. Cornelio Barrientos Alvarado por su asesoría en el análisis estadístico de esta tesis**

## Contenido

|  |    |
|--|----|
| RESUMEN DEL PROYECTO :.....                        | 6  |
| MARCO TEORICO .....                                | 10 |
| PREGUNTA DE INVESTIGACION .....                    | 36 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....                    | 36 |
| OBJETIVOS.....                                     | 36 |
| HIPOTESIS .....                                    | 37 |
| TIPO DE ESTUDIO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION ..... | 38 |
| CRITERIOS DE SELECCION. ....                       | 38 |
| METODOLOGIA .....                                  | 39 |
| DEFINICION DE VARIABLES .....                      | 39 |
| ANALISIS ESTADISTICO .....                         | 39 |
| CONSIDERACIONES ETICAS .....                       | 39 |
| RESULTADOS: .....                                  | 41 |
| DISCUSIÓN .....                                    | 44 |
| CONCLUSIONES.....                                  | 46 |
| BIBLIOGRAFIA.....                                  | 47 |

EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DEL FACTOR DE CRECIMIENTO  
ENDOTELIAL VASCULAR Y SU CORRELACIÓN CON EL ULTRASONIDO  
MUSCULOESQUELÉTICO COMO MARCADOR PARA VALORAR LA  
ACTIVIDAD DE LA ARTRITIS REUMATOIDE

RESUMEN :

La Artritis Reumatoide es una enfermedad autoinmunitaria , crónica de etiología desconocida, caracterizada por inflamación articular persistente en el tejido sinovial que genera destrucción del cartílago y del hueso, con perdida completa de la estructura articular; y que también produce afectación sistémica con cambios patológicos en distintos organos y tejidos. En cuadros de actividad de la patología se encuentra sinovitis activa asociada directamente al proceso de angiogénesis a nivel de la articulación, siendo esta última definida como la formación de nuevos capilares a partir de vasos preexistentes, en la cual pueden intervenir un número de factores solubles y unidos a células que pueden estimular el proceso de neovascularización. Entre estos mediadores angiogénicos se incluyen a los factores de crecimiento, tales como el factor de crecimiento endovascular (VEGF), factores inducibles por hipoxia (HIF), citocinas proinflamatorias, quimiocinas, varios componentes de la matriz extracelular, moléculas de adhesión celular, proteasas; siendo el principal el factor de crecimiento endovascular ( VEGF ). El factor de crecimiento endovascular

(VEGF) el factor angiogénico más conocido asociado con artritis reumatoide, así como en otros tipos de inflamación crónica y en neoplasias.

Se realizó un estudio de tipo prospectivo, transversal y observacional en donde se correlacionó la actividad de la artritis reumatoide medida por DAS28 y la actividad valorada por ultrasonido poder doppler (PD) junto con los niveles séricos de VEGF. Se analizaron 34 pacientes del servicio de reumatología del Hospital Juárez de México con diagnóstico de artritis reumatoide, se valoró el índice de actividad por DAS 28 junto con la actividad medida por ultrasonido poder doppler musculoesquelético y se determinaron los niveles séricos de VEGF.

Se encontró que una correlación positiva entre DAS 28 –VEGF y DAS28-PD, con una  $p < 0.01$ ; concluyendo que dichas herramientas son útiles para valorar índice de actividad de la enfermedad; así como también nos sirve para tomar decisiones terapéuticas

## MARCO TEÓRICO

La artritis Reumatoide es una enfermedad autoinmunitaria común que esta asociado a incapacidad y complicaciones sistémicas, muerte temprana y costos socioeconómicos (1), de etiología desconocida caracterizada por inflamación articular persistente en el tejido sinovial que genera destrucción del hueso y del cartílago con pérdida completa de la estructura articular además produce afectación sistémica con cambios patológicos en distintos órganos y tejidos .La prevalencia de la artritis reumatoide en latinoamerica oscila entre 0.4 a 1.6% , un estudio epidemiológico sobre dolor musculoesquelético efectuado en 25587 sujetos de regiones de México (Chihuahua, Nuevo León , Sinaloa, Yucatán y Ciudad de México) mostro una prevalencia de la artritis reumatoide , de la cual en mujeresla prevalencia fue de 2.0% mientras que en hombres fue 0.8% . La presentación de esta enfermedad es heterogénea cerca del 90% de los pacientes con sinovitis agresiva tienen evidencia radiográfica de erosión ósea dentro de los 2 años del diagnóstico a pesar de tratamiento , por lo que actualmente es deseable poder identificar a pacientes en estadio temprano y que cuentan con factores de riesgo para evaluación de una enfermedad severa(2).

Se ha observado que en la sinovitis se encuentra un proceso de la angiogenesis en forma muy activa y ocurre como un proceso coordinado comprendiendo proliferación y migración de células endoteliales seguido de la formación de tubulos capilares con deposito en la membrana basal y proliferación y migración de pericitos , la evolución en las técnicas de imagen actualmente permiten evaluar la vascularidad a nivel de la sinovial y que pueden llegar a ser útiles en la

evaluación de la actividad de la artritis Reumatoide así como también que sean útiles para valorar la respuesta .

Desde 1982 se ha sugerido que las necesidades metabólicas en el tejido sinovial de la artritis reumatoide están incrementadas y pueden iniciar el daño tisular por vía Anoxia y por acidosis , lo que lleva a liberación de enzimas hidrolíticas , incrementando la permeabilidad vascular y un incremento de la inflamación (3). La expansión del revestimiento sinovial de las articulaciones en la artritis reumatoide (AR) y la posterior invasión por el pannus del cartílago y el hueso subyacente requiere de un aumento en el suministro vascular a la sinovial, para hacer frente al aumento de las necesidades de oxígeno y nutrientes. La formación de nuevos vasos se denomina “angiogénesis”, la cual es reconocida como un evento clave en la formación y mantenimiento del pannus, el cual es altamente vascularizado; por lo que se piensa que el dirigir un tratamiento hacia la detención del proceso de angiogenesis puede ser un objetivo en la terapéutica. Esto conllevaría a disminuir el aporte de nutrientes al sitio de inflamación y también puede favorecer la reducción del pannus .Existen varios factores proangiogénicos expresados en el sinovio de los pacientes con Artritis reumatoide ,sobresaliendo el VEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular), existen además estudios que han reportado que la inhibición de la actividad del VEGF, en modelos murinos con artritis inducida por colágeno usando un receptor de forma soluble del VEGF , reduce la actividad de la enfermedad , la inflamación y la destrucción de las articulaciones (4).

La membrana sinovial, es un tejido delgado que recubre las articulaciones diartrodiales, La capa de revestimiento contiene fibroblastos como sinoviocitos y macrófagos, que producen moléculas de la matriz extracelular y líquido sinovial, fluido acelular que llena la cavidad de la articulación que le permite moverse sin problemas, en pacientes con artritis reumatoide los cambios que se presentan en forma brusca en forma primaria se caracterizan por ser primariamente una fase altamente inflamatoria de tipo prevascular (5), en esta fase el sinovio presenta una inflamación importante así como aumento de la masa, esto debido a hiperplasia de la capa de revestimiento el infiltrado incluye células sanguíneas incluyendo linfocitos y macrófagos.

Se observa además la presencia de un número incrementado de vasos sanguíneos esto se ha correlacionado directamente con la hiperplasia de las células y de un infiltrado mononuclear correlacionándose directamente con el dolor a nivel de la articulación.(6)

La angiogénesis se define como la formación de nuevos capilares a partir de vasos preexistentes en la cual pueden intervenir un número de factores solubles y unidos a células los cuales pueden estimular el proceso de neovascularización su perpetuación implica la participación de numerosas sustancias mediadoras solubles que se encuentran unidos a la superficie de las células y se ha asociado con la artritis reumatoide (AR). Entre estos mediadores angiogénicos se incluyen a los factores de crecimiento, siendo el principal el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) los factores inducibles por hipoxia (HIF), citocinas

proinflamatorias, quimiocinas, varios componentes de la matriz, las moléculas de adhesión celular, proteasas, y otros. También hay varios inhibidores de la angiogénesis, dirigidos a la inhibición del VEGF, HIF-1, quimiocinas angiogénicas, factor de necrosis tumoral- $\alpha$ , y la integrina  $\alpha v\beta 3$  pueden atenuar la acción de mediadores angiogénicos y por lo tanto la angiogénesis sinovial. Además algunos compuestos producidos de forma natural o sintéticos que incluyen angiostatina, endostatina, paclitaxel, análogos de fumagilina, 2-metoxiestradiol, y la talidomida pueden incluirse en el tratamiento de la artritis reumatoide por medio de este mecanismo de acción.

## VEGF Y FUNCIONES BIOLÓGICAS

El factor de crecimiento endovascular (VEGF) fue descrito por primera vez como un factor vascular por Senger et al. y luego reconocida como factor angiogénico por Leung et al. El VEGF consta de familia de genes que incluye siete miembros, factores de crecimiento placentario, VEGF A, VEGF B, VEGF C, VEGF D, VEGF E y VEGF F, cada miembro contiene una secuencia de señales que se dividen durante su biosíntesis, existen 4 isoformas diferentes de la VEGF in vivo, siendo estas VEGF 206, VEGF 189, VEGF 165 y VEGF 121.

Los miembros de la familia de VEGF ligando tienen tres proteínas quinasas receptoras de VEGF R1 (Flt1), el VEGF R2 (dominio de inserción de quinasa del receptor de Flk-1) y VEGF R3 y dos receptores no enzimáticos (neutrophilin-1 y neutrophilin-2)(26).

Existen muchos factores proangiogénicos pero ninguno es considerado tan potente o tan predominante como VEGF, Experimentos de inhibición inducida y mutaciones genéticas han demostrado que VEGF es tan crucial para el desarrollo neonatal como para el desarrollo embrionario. La inhibición de VEGF en esta etapa del desarrollo conduce a un aumento en la tasa de mortalidad en ratones neonatales debido a una serie de factores, incluyendo el retraso del crecimiento el deterioro del desarrollo de órganos y la insuficiencia renal. De hecho la delección de los alelos de VEGF termina en la letalidad embrionaria en ratones a causa de complicaciones angiogénicas como la vascularización deficiente de organos (30)

La expresión de VEGF R1 y VEGF R2 se efectúa por la hipoxia, aunque en menor medida que la de VEGF. La transcripción del VEGF R1, pero no la de VEGF R2 se ve reforzada por la hipoxia através de un mecanismo post-transcripcional.

Las proteína tirosina fosfatasas SHP-1 y SHP-2 se asocian físicamente con VEGF R2 después de la estimulación con VEGF, participando así en la generación y modulación de señales inducida por VEGF(27).

La heparina forma la unión de VEGF a la superficie celular y a la matriz extracelular (ECM) asociado al proteoglicano sulfato de heparina liberando eventualmente factores angiogénicos la activación de los receptores de VEGF resulta en la generación de proteasas (ejemplo: colagenasas, los activadores del plasminógeno) que se requieren para la ruptura de los vasos sanguíneos que son necesarios para la ruptura de la membrana basal como primer paso de la angiogénesis, y en la expresión de integrinas específicas necesarias para la

angiogénesis y finalmente en la iniciación de la proliferación celular y la migración celular. VEGF también activa la quinasa de adhesión focal y proteínas asociadas que han sido mostrados para mantener las señales de supervivencia en las células endoteliales. El óxido nítrico (NO) también regula a la expresión del VEGF y contribuye a los efectos de la permeabilidad de VEGF en los vasos sanguíneos y la vasodilatación mediada por VEGF.

Un estudio también sugiere el papel de los factores de los transductores de transcripción de señal y a los activadores de transcripción (STAT) -1 y STAT-3 en la modulación de la expresión de VEGF en las células musculares lisas vasculares. STAT-1 suprime la HIF-1 alfa, mientras que la expresión de STAT-3 regula positivamente la expresión de HIF-1 alfa .

Ciertas citoquinas angiogénicas indirectas, tales como el TGF- $\beta$  1, pueden actuar a través de la inducción de la expresión de genes de factor de crecimiento y VEGF en las células residentes cerca de las células endoteliales in vivo. La hipoxia constituye un potente estímulo para la expresión génica de VEGF. Además existen otros mediadores angiogénicos entre los que se encuentran incluidos la interleucina-6 (IL-6), IL-17, IL-18, el óxido nítrico , factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factores inhibidores de la migración de macrófagos (FOMIN), la endotelina-1 (ET-1), y activan al VEGF a través de la vía de los prostanoídes . Por lo que la medición del factor de crecimiento endovascular puede ser un marcador de actividad de la artritis reumatoide ya que a nivel del pannus en la artritis reumatoide se encuentran elevadas las necesidades metabólicas por lo

que la angiogenesis se encuentra aumentada y el factor de crecimiento endovascular también debe de estar incrementado .(29)

Las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos están involucradas en la entrada de los leucocitos en los sitios inflamatorios , La angiogenesis además de participar en la proliferación endotelial también participa en la formación de nuevos vasos sanguíneos , en la reparación tisular y en procesos reproductivos. Adicionalmente la perpetuación de la neovascularización esta asociada con procesos inflamatorios y procesos neoplásicos. Así la artritis reumatoide puede ser considerada una enfermedad angiogénica , por lo que el incremento en la neovascularización en esta enfermedad juega un papel importante .Los leucocitos inflamatorios migran a través del endotelio fenestrado de los vasos de la sinovia reumatoidea , en esta patología hay una neovascularización intensa en la inflamación sinovial . Estos mediadores de la angiogénesis incluyen a la mayoría de los factores de crecimiento, algunas citocinas proinflamatorias, quimiocinas, componentes de la matriz extracelular, enzimas degradadoras de la matriz, y moléculas de la adhesión celular .La mayoría de estos mediadores se han detectado en la membrana sinovial de pacientes con artritis reumatoide y han sido implicado en la patogénesis.

En cuanto al proceso angiogénico la neovascularización es un proceso complejo que incluye varios pasos complejos para la formación de nuevos capilares en los vasos ya existentes , en primer lugar los diferentes mediadores angiogénicos activan a las células endoteliales . Esto se asocia con la producción de metaloproteínasas enzimas degradadoras de la matriz (MMP) .Estas proteasas

degradan el parte mas inferior de la membrana del endotelio y el intersticio , lo que permite una continuación endotelial . Hay más de 20 MMP conocidas , además de una MMP de tipo membrana ( MT- MMP ) . Entre estas enzimas ,colagenasa ( MMP - 1 ) y gelatinasas ( MMP - 2 y MMP - 9 ) parece ser los más relevantes para la angiogénesis . Además de las MMP , otras enzimas llamados proteasas serinas , que incluyen a los activadores de plasminógeno de tipo uroquinasa y tisular ( ATPs y UPAS ) también están involucrados en la neovascularización. La migración de las células endoteliales libres llevan a la formación de nuevos capilares . Las células endoteliales en la capa media del nuevo vaso se somete a mitosis , mientras que otros en el extremo del nuevo vaso solo migran pero no proliferan . Esto es seguido por la formación del lumen dentro del nuevo vaso . Dos nuevos vasos se anastomosan luego unas con otras , llegando a formar asas capilares . A continuación, se sintetiza nueva membrana basal . la continua migración de las células endoteliales se traduce en el desarrollo de segundo y posterior generación de nuevos vasos .Dentro de los factores con mayor importancia para la angiogenesis se encuentra el factor de crecimiento vascular (VEFG).

El VEGF induce directamente la angiogénesis. Además, de otros mediadores angiogénicos entre las que se encuentran incluidas la interleucina-6 (IL-6), IL-17, IL-18,el oxido Nítrico , factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factores inhibidores de la migración de macrófagos (FOMIN), la endotelina-1 (ET-1), y activan al VEGF a través de la vía de los prostanoides .

El factor de crecimiento vascular VEGF , HGF(factor de crecimiento de hepatocito) , el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) , y factor de crecimiento de fibroblastos ácido ( aFGF ) se une a la heparina y al sulfato de heparán en el intersticio sinovial . Estos factores de crecimiento son movilizados por la heparinasa y plasmina durante neovascularization( 7 ). La hipoxia es una característica de la articulación de la artritis reumatoide . La hipoxia en sí estimula la producción de VEGF . Además , el factor de crecimiento de hepatocito alfa 1 y alfa 2 ( HIF - 1 $\alpha$  y HIF - 2 $\alpha$ ) , que regulan la transcripción de genes de VEGF , también han sido implicados en angiogenesis. El complejo angiopoyetina – 1 ( Ang1 ) / Tie- 2 interactúa con VEGF durante la estabilización de los vasos sanguíneos recién formados , mientras que en contraste , Ang2 inhibe la maduración .La survivina , un inhibidor de la apoptosis , también está implicado en la angiogenesis inducida por VEGF .Factores de crecimiento de unión no heparina incluyen al factor derivado de plaquetas ( PDGF) , células endoteliales derivado de plaquetas ( PD- ECGF ) , epidérmico (EGF ) , similar a la insulina ( IGF-I ) , de queratinocitos ( KGF ) , placenta ( PIGF ) , y la transformación ( TGF ) –  $\beta$ , TGF -  $\beta$  puede ejercer efectos tanto estimuladoras como inhibidoras sobre la angiogénesis, que es dependiente de la dosis.

El factor de crecimiento vascular es un factor de crecimiento de unión a heparina, que desempeña un papel central en la regulación de la neovascularización (Veale y Fearon, 2006). Hipoxia, así como las citocinas proinflamatorias, incluyendo tumor , factor de necrosis- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y la IL-1 estimulan la producción de VEGF en artritis , Hipoxia actúa a través del factor

inducible por hipoxia heterodímero, HIF-1 $\alpha$ /HIF-1 $\beta$  ,Otros mediadores, tales como hepatocitos (HGF) y de crecimiento epidérmico factores (EGF), prostanoïdes o el óxido nítrico (NO) también pueden estimular la liberación de VEGF(8).

El factor de crecimiento vascular en pacientes con artritis reumatoide es producido por macrófagos , fibroblastos alrededor de los microvasos , asi como en las células de revestimiento celular ,neutrofilos del liquido sinovial , asi como en células mononucleares en sangre periférica , estos niveles son más elevados en pacientes con artritis reumatoide comparado en pacientes con osteoartritis Se ha observado en estudios que los niveles de VEGF se correlaciona directamente con los diferentes scores de actividad y signos de progresión radiográfica , asi también se ha observado que niveles elevados de VEGF en los estadios tempranos de la enfermedad , esto puede predecir el tamaño y magnitud del daño a nivel de las articulaciones .

El mecanismo de producción de VEGF en la artritis reumatoide no esta completamente conocido esta regulada por la hipoxia, se ha observado que niveles bajos de PO<sub>2</sub> a nivel articular desencadena la producción local de VEGF(9).

## CITOCINAS

También en la angiogenesis se ha encontrado participación importante de citocinas proinflamatorias entre las cuales se encuentran también el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), IL-1, IL-6,IL-15, IL-17, IL-18, Oncostatina M , MIF , (G-CSF), y el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos, se encuentran elevadas en forma importante en pacientes con artritis reumatoide (3)

## QUIMIOCINAS Y RECEPTORES DE QUIMIOCINAS

Las Quimiocinas CXC contienen ELR (glutamil leucil arginil) secuencia de aminoácidos que estimulan la angiogenesis a nivel sinovial. Estas quimiocinas incluyen IL-8/CXCL8, neutrófilos epiteliales la activación de la proteína-78 (ENA-78/CXCL5), y los  $\alpha$  oncogenes relacionados con el crecimiento (gro $\alpha$ /CXCL1), originan la activación del tejido conjuntivo a través de la proteína-III (CTAP-III/CXCL6). En contraste, otras quimiocinas CXC que carecen de la secuencia de ELR tienen la característica de que suprimen la neovascularización. Las células estromales derivadas del factor 1 (SDF-1/CXCL12), pueden ser solamente quimiocinas que carecen de la secuencia de ELR pueden llegar a estimular la angiogenesis. SDF-1/CXCL12 es un regulador clave del proceso de neogenesis linfoide sinovial. Entre las quimiocinas CC, MCP-1/CCL2 promueven la angiogénesis mediante el apoyo a la actividad de los factores de crecimiento durante el proceso de la angiogenesis. Fractalcina/CX3CL1 también promueve la neovascularization. Estas quimiocinas también participan en el reclutamiento de leucocitos a nivel de la membrana sinovial en la artritis Reumatoide.

Entre los receptores de quimiocinas, CXCR2 puede ser el receptor más importante para quimiocinas angiogenicas ELR +, tales como IL-8/CXCL68, ENA-78/CXCL5 y gro $\alpha$ /CXCL1 en las células endoteliales, interacciones CCR2-MCP-1/CCL2 también han sido implicados en el proceso de angiogénesis asociada a la Artritis Reumatoide.

## COMPONENTES DE LA MATRIX EXTRACELULAR Y MOLECULAS DE LA ADHESIÓN CELULAR

Incluyen varios componentes de la matrix entre los que se incluyen el colágeno tipo 1, Fibronectina, laminina, vitronectina, Tenascina, Trombospondina y proteoglucanos juegan un papel en la adhesión celular endotelial y migración durante la neovascularización. Siendo el papel de estas en fases tempranas de la enfermedad, Moléculas de adhesión celular están implicados en la adhesión de leucocitos a las células endoteliales, a la matriz y sus componentes. Estas moléculas desempeñan un papel crucial en la emigración de leucocitos en la sinovial de pacientes con artritis reumatoide y en el proceso de angiogenesis. Entre los receptores de adhesión expresadas en las células endoteliales, como  $\beta 1$  y  $\beta 3$  integrinas, E-selectina, el ligando de L-selectina CD34 y glicoconjugados relacionados a selectina-incluyendo Lewisy / H y MUC18, molécula de adhesión celular vascular-1 (VCAM-1), molécula de adhesión intercelular-2 (ICAM-2),- endotelio de plaquetas, molécula de adhesión celular-1 (PECAM-1; CD31), endoglina (CD105), y moléculas de adhesión celular de unión (JAM-A y JAM-C) median la adhesión celular durante la angiogenesis sinovial(21).

Entre otros mediadores angiogenicos se encuentran el sistema ciclooxigenasa/prostaglandina sobresaliendo entre ellos la prostaglandina E2 en el proceso de la neovascularización dependiente de VEGF, Otros factores angiogénicos participantes en la Artritis reumatoide incluyen angiogenina, angiotropina, ET-1, Amiloide serico A (SAA), pleiotropina, el factor activador de plaquetas (PAF), la histamina, la sustancia P, la eritropoyetina, la adenosina, la prolactina, y trombina

.Existe una red de numerosos mecanismos que interactúan por retroalimentación en el líquido sinovial .El factor de crecimiento endotelial puede actuar en parte por la vía dependientes de la integrina . otros mecanismos reguladores incluyen el balance en forma pareada entre las metaloproteinasas y los inhibidores tisulares de las metaloproteínas (10)

Se ha observado que las enfermedades musculoesqueléticas se asocian más a incapacidad funcional así como a enfermedades cardiacas y al cáncer. También se ha observado que en los pacientes con artritis reumatoide , tienen una alta prevalencia en cuanto a la presencia de angina pectoris así como y evento vascular cerebral , incluso la mortalidad en los pacientes con artritis Reumatoide severa ha llegado a ser equivalente con pacientes con enfermedad arterial cardiaca trivascular . Aparte de la poliartritis característica de la artritis reumatoide también estructuras periarticulares como la bursa y las inserciones tendinosas también pueden estar inflamadas , pueden observarse otras características como los nódulos de tipo inflamatorio , cuadros de vasculitis y pericarditis afección de los pulmones , afección del sistema nervioso , o algunas anormalidades hematológicas .

Los linfocitos que infiltran el sinovio son predominantemente CD4 ( cooperadores /inductores), con alta expresión de CD45RO y moléculas de adhesión . En estudios morfométricos han sugerido que los capilares están distribuidos en capas más profundas en el sinovio de la artritis reumatoide comparado con el tejido normal también la fracción del volumen sanguíneo se observa mayor en las rodillas de pacientes sanos que en la de los pacientes con artritis reumatoide .

Se ha encontrado una correlación importante en cuanto a número de los vasos sanguíneos a nivel sinovial con las células de la hiperplasia a nivel sinovial, la infiltración de las células mononucleares y los índices de articulaciones dolorosas. Una consecuencia de la hiperplasia sinovial que ocurre en la artritis reumatoide es un incremento en la distancia entre las células en proliferación y los nuevos vasos sanguíneos lo que lleva a la existencia de una hipoperfusión y por consiguiente a hipoxia a nivel de las nuevas células. El consumo de oxígeno en la membrana sinovial de pacientes con artritis reumatoide está elevado y que la glucosa es obtenida por vía anaeróbica, todo este incremento metabólico durante la expansión tisular lleva en forma compensatoria a un incremento en la formación de nuevos vasos sanguíneos, ante un proceso de angiogénesis disregulado va a contribuir a varias enfermedades en las cuales hay una angiogénesis fuera de control entre estos ejemplos se encuentran los tumores, procesos de retinopatía diabética o la psoriasis.

Histológicamente, la sinovitis en la Artritis Reumatoide se caracteriza por un infiltrado de células mononucleares y la presencia de vasculatura exuberante. Además, la actividad de la enfermedad de una articulación dada se correlaciona con la vascularización de la sinovial. La angiogénesis es evidente en el examen microscópico de las biopsias sinoviales de las primeras etapas de evolución de la enfermedad y se observa como una fina red de vasos sobre la sinovial reumatoidea en la inspección artroscópica de las articulaciones con artritis reumatoide AR. La angiogénesis es esencial para el desarrollo del pannus inflamatorio y sin necesidad de entrada de los leucocitos. Además, la formación de

nuevos vasos sanguíneos permite un suministro de nutrientes y oxígeno a la masa celular inflamatoria aumentada y así contribuye a la perpetuación de la sinovitis. Los estudios en modelos experimentales de artritis sugieren que la destrucción de hueso y el cartílago puede estar más estrechamente relacionada con la angiogénesis que a la inflamación del pannus . Los pacientes con Artritis Reumatoide severa mueren prematuramente, por enfermedad cardiovascular siendo la principal causa de una alta mortalidad . Las etapas más tempranas de la aterosclerosis se caracterizan por la disfunción endotelial como lo demuestra la respuesta del flujo sanguíneo anormal a acetilcolina. Ahora hay pruebas de que la disfunción endotelial es una característica de las fases tempranas y ya establecidas de la artritis reumatoide (11) .

Además, este estado disfuncional está presente de forma independiente de los factores de riesgo cardiovascular convencionales para la enfermedad aterosclerótica, que implican a otros mecanismos asociados con inflamación crónica . Los Neutrófilos humanos secretan factor de crecimiento endovascular y sus niveles en los neutrófilos del líquido sinovial de pacientes con artritis Reumatoide se correlacionan bien con la actividad de la enfermedad de los pacientes. Sin embargo, no existe correlación entre las concentraciones de VEGF medidos al mismo tiempo en muestras de suero y líquido sinovial de pacientes con Artritis Reumatoide. A principios de la artritis inflamatoria, los niveles de VEGF en el líquido sinovial se correlacionan con concentraciones de metaloproteínasa de la matriz -9 en el líquido(12).

Factor de Crecimiento Endovascular actividad de la enfermedad y respuesta a los medicamentos Modificadores de la enfermedad

Los orígenes tisulares y celulares de dicha molécula son claros . In vitro, las células mononucleares de sangre periférica humana liberan VEGF en respuesta a las citoquinas presentes en las articulaciones con AR ,incluyendo el TNF-alfa . La liberación de VEGF de las plaquetas también han sido reportadas . Por lo tanto, el VEGF a nivel del suero se puede derivar a partir de varias fuentes, incluyendo plaquetas , fluido sinovial neutrófilos , el tejido sinovial inflamado u otros. Las concentraciones de VEGF en el suero se correlacionan con mediciones individualizadas o compuestas de actividad de la enfermedad incluyendo marcadores y reactantes de fase aguda conteó del número de articulaciones inflamadas y sensibles . En un estudio de los pacientes que asistían a una clínica de artritis Reumatoide con artritis inflamatoria temprana y establecida se encontró que las concentraciones de VEGF en suero eran mayor en los pacientes con AR temprana que en pacientes tratados de larga evolución. Esta observación puede representar un apoyo para valorar respuesta a la terapia, estas observaciones han demostrado apoyo a otros estudios demostrando reducción en las concentraciones de VEGF en suero después de terapéutica intervención. Existen una serie, de un total de 27 Pacientes con AR con respuesta a la terapia con drogas antirreumáticas modificadoras de la enfermedad (FARME) mostraron una reducción significativa en los niveles de VEGF en suero, en contraste con los pacientes que no respondieron al tratamiento no hubo ningún cambio significativo en las concentraciones de VEGF en el suero . El tratamiento de los pacientes con

AR tratados con Infliximab presentaron una marcada reducción, pero no la normalización, de las concentraciones de VEGF en el suero. La reducción se correlaciona con los cambios en la actividad de la enfermedad en las mediciones clínicas y de laboratorio.

#### Técnicas de Imagen por ultrasonografía de la vasculatura sinovial en Artritis Reumatoide

El uso del ultrasonido musculoesquelético a ganado mucha importancia como método de ayuda diagnóstica y terapéutico en forma adicional en las enfermedades reumatológicas en Europa por muchos años y más recientemente ha ganado importancia en cuanto a su uso en los Estados Unidos. El ultrasonido musculoesquelético proporciona información útil que complementa el examen físico y a menudo supera la utilidad diagnóstica de las radiografías simples, el ultrasonido también ofrece ventajas sobre otros estudios de imagen como la resonancia magnética y la tomografía computada incluyendo ser menos cara, la falta de contraindicaciones como la claustrofobia al tubo del resonador o el contar con prótesis metálicas, la capacidad dinámica del estudio para valorar el área afectada así como facilidad para evaluar otra área o hacer una evaluación de otros sitios afectados, los avances tecnológicos han aumentado el valor del ultrasonido musculoesquelético en enfermedades reumáticas, incluyendo mejoras en la escala de grises, la modalidad de poder Doppler es más sensible y proporciona una mejor evaluación de la inflamación aguda. Muchos investigadores han validado la evaluación sonográfica para la sinovitis en

múltiples sitios anatómicos en la artritis reumatoide incluyendo : hombros , carpos y pequeñas articulaciones de las manos , rodillas y pies (13).

Con la escala de grises la sinovitis aparece como la hipertrofia sinovial (hipoecoico o isoecoico visto como gris ) o derrame sinovial (anecoico visto como negro) y se puede medir la patología midiendo el espesor sinovial o el tamaño del derrame.

El poder doppler es capaz de detectar flujo microvascular dentro de la membrana sinovial patológica con hipervascularidad , sirve como una ayuda a la valoración a la imagen en la escala de grises y es más sensible para la detección de la enfermedad en forma temprana y valorar si es agudo o crónico valorando el engrosamiento de la membrana , por lo tanto no solo es superior en la valoración de la presencia de sinovitis por medio de las radiografías simples si no también lo es a la exploración . también se ha visto utilidad en cuanto a la valoración de la presencia de tenosinovitis y en la detección de erosiones en fases tempranas de la artritis reumatoide siendo superior en la detección de estas comparado con las radiografías simples. estudios como los realizados por Wakefield y cols . reportaron hasta 6.5 veces mas la presencia de erosiones versus la radiografías simples (14)

Existen estudios recientes dirigidos al uso de la escalas de grises en el ultrasonido en modo B en la evaluación de la inflamación en la sinovial de pacientes con artritis reumatoide, esto nos ha indicado que la examinación articular y las radiografías convencionales son comparativamente herramientas menos sensibles .La radiografía convencional solo ofrece signos tardíos de la enfermedad con destrucción del hueso y del cartílago , actualmente se menciona

la utilidad de la resonancia magnética así como de ultrasonido en la evaluación de los tejidos blandos , en la artritis reumatoide . La mejor resolución de del ultrasonido a nivel de los tejidos blandos ha mejorado pero a expensas de menor penetración de los demás tejidos .Un equipo adecuado para la realización de ultrasonido musculoesquelético debe de ser con transductores estándar de 7.5 a 10 MHz así como para adecuada definición de los tejidos superficiales incluye la necesidad de uso de transductores de alta frecuencia de 13, 15 , 20, 22 y 30 MHz. Los transductores de 20 MHz tienen un alto poder de resolución axial hasta de 0.038 mm pero con resolución de imagen limitada por lo que no permite la evaluación de estructuras más profundas de 1.5 cm sobre la superficie de la piel , pero en la actualidad se han desarrollado transductores de más amplia resolución (5–10 Mz,8–16MHz y 10–22 MHz).Las Mediciones de los ultrasonidos de alta frecuencia permiten medir el espacio articular ,su grosor así como el engrosamiento en las pequeñas articulaciones de las manos en pacientes con artritis Reumatoide activa , sin embargo existen imágenes en las que no necesariamente demuestran una clara relación con las evaluaciones clínicas de la actividad de la enfermedad , solo ayuda a identificar engrosamiento sin necesariamente identificación de que si existe tejido inflamado de tejido fibrosado , coagulo sanguíneo , fibrina , derrame complejos o tejidos de debridación. Usando el método Doppler en el cual la señal es generada por el movimiento de las células sanguíneas la información puede ser obtenida fácilmente y sin necesidad de realizar invasión .También para evaluación de la vasculatura de la sinovial y esto nos permite evaluar mejor la sinovitis activa , el

flujo de los grandes vasos es de gran velocidad y son detectados por colores convencionales, sin embargo en la microvasculatura la cual es más relevante en sinovitis reumatoide el cual la velocidad del flujo es menor y menos detectable por este método, y por medio de la sonografía Doppler esta señal es amplificada siendo una herramienta útil y sensible para demostrar el flujo a nivel de los pequeños vasos. Varios estudios han confirmado que el ultrasonido Doppler es capaz de detectar hiperemia sinovial, en una articulación inflamada con artritis reumatoide, por lo que estudios recientes han demostrado el alto valor de combinación del ultrasonido de alta frecuencia y el ultrasonido Doppler como una herramienta útil para la detección de entesitis periférica en pacientes con espondiloartropatía (15).

La cuantificación numérica de la vascularización de la sinovial por poder doppler permite la investigación por este método de imagen la actividad de la enfermedad y la respuesta a las intervenciones terapéuticas, la evaluación cuantitativa del poder Doppler de la vasculatura sinovial en las articulaciones metacarpofalángicas de los pacientes con artritis reumatoide se reporta correlación con la velocidad de sedimentación globular, interesantemente no existe una relación clara entre los niveles séricos de VEGF y los scores de la vascularidad sinovial intraarticular determinada por poder Doppler a nivel de los carpos. sin embargo hay varios estudios que han evaluado la utilidad en la respuesta terapéutica observando reducción en la señal poder Doppler a nivel de las pequeñas articulaciones en pacientes con artritis reumatoide con respuesta al tratamiento a base de esteroides y de terapia anti TNF(16).

Existe incertidumbre con respecto a la fuente de VEGF medidos en el suero y la heterogeneidad en la señal vascular observado en cualquier paciente con Artritis Reumatoide en las diversas articulaciones periféricas. Varias publicaciones recientes han puesto de relieve el alto valor en forma potencial y la frecuencia en EE.UU. y la importancia para la evaluación de la respuesta a una intervención terapéutica. La Reducción de la señal de Poder Doppler en las articulaciones con AR se ha informado en estudios pequeño no controlados después de la infusión de esteroide intraarticular y terapias anti TNF.

Se han llevado con éxito estudios comparativos en forma aleatorizada. en grupos de estudio en los que se ha demostrado la utilidad de realizar las medidas ecográficas a nivel del espesor de la sinovial y la vascularización para evaluar el resultado en las diferentes terapéuticas empleadas en el contexto de estudios controlados a doble ciego comparados con placebo.

También se han realizado estudios en los que se han investigado la capacidad de las mediciones con el ultrasonido de alta frecuencia el espesor sinovial en forma cuantitativa la vascularización sinovial para por medio de poder doopler y ayuda a discriminar entre los pacientes con Artritis Reumatoide temprana que recibieron infliximab o infusiones de placebo añadido a tratamiento previo con metotrexato ( MTX ). Veinticuatro pacientes con AR temprana ( < 3 años duración) con dosis estables de MTX fueron aleatorizados para recibir infusiones de infliximab ( 5 mg / kg) o placebo en las semanas 0 , 2 , 6 , y posteriormente cada 8 semanas hasta la semana 46 . Al inicio del estudio y a las 18 semanas , todas las articulaciones metacarpofalángicas se escanearon en la superficie dorsal

por ultrasonido de alta frecuencia y la PD utilizando un Transductor Sequoia 15L8 con modo B constante en forma ajustada. Para cada una se le asignó una puntuación que va de 0 a 5 , valorando el engrosamiento sinovial articular. Una puntuación total del espesor de la sinovial fue calculado como la suma de las puntuaciones de articulaciones individuales. Del mismo modo , el numero de los pixeles de las imágenes con el Doppler color demuestran la vascularización sinovial máxima fue determinada y el área total de color Doppler es calculado como la suma de la articulaciones de la persona . Al inicio del estudio y la semana 54 , las radiografías de las manos y pies se tomaron y se evaluaron en secuencia cronológica, según el método modificado de van der Heijde Sharp (van der Puntuación - Heijde de Sharp ).

La prueba U de Mann-Whitney se utilizó para evaluar las diferencias en la progresión de las tres modalidades de imagen entre los dos grupos de tratamiento. La reducción promedio en el espesor de la sinovial según la evaluación de alta resolución EE.UU. era 50% en el grupo de infliximab en comparación con un aumento del 1,2% en el grupo placebo ( $p = 0,014$ ). Del mismo modo, el Doppler color el área mediana disminuyó en 98,4% en el grupo de infliximab más metotrexato en comparación con una reducción de sólo el 30,7% en el grupo placebo más MTX, una diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,017$ ).

En dicho estudio, las medidas ecográficas fueron más capaces de discriminar entre pacientes que recibieron infliximab y los que recibieron infusiones de placebo que fueron los cambios en la actividad de la enfermedad valorados por (DAS28) en el punto de tiempo de 18 semanas.

El retraso o la reversión de los mecanismos inflamatorios destructivos y conjuntos en los pacientes con Artritis Reumatoide temprana fue aparente después de 18 semanas de tratamiento con infliximab más metotrexato y se reflejó con cambios radiográficos a las 54 semanas.

El uso de agentes de contraste para el ultrasonido pueden intensificar la señal y facilitar la captación hasta tres veces más incrementando la sensibilidad de este estudio en artritis inflamatorias, esto garantiza la investigación del tejido articular inflamatorio, incluye la evaluación de las curvas intensidad tiempo que proporciona una estimación cuantitativa de la perfusión sinovial, en el caso de la artritis reumatoide el tejido sinovial de la articulación de la rodilla se encuentra con una relación significativa entre las áreas subyacentes reportadas de las curvas intensidad- tiempo con el DAS y con la PCR. Sin embargo tienen como desventajas los elevados costos, tiempo y que es un proceso invasivo (17).

Las principales ventajas del ultrasonido con otras técnicas de imagen incluye la ausencia de radiación, se puede realizar en la cabecera del paciente y es fácilmente aceptable sin embargo aun no ha sido estandarizada y la calidad del examen depende del uso óptimo del equipo y de la habilidad del operador ya que el movimiento de la mano del operador puede originar un fenómeno conocido como flash existen realces de los artefactos en el efecto Doppler, las fluctuaciones de temperatura pueden alterar la señal de Poder Doppler, y por lo tanto la exploración ideal sería que se realizara en una habitación donde la temperatura se mantuviera constante durante todo el año con un retraso de por lo menos 10 minutos si el paciente llega desde el exterior. Si se ejerce una presión

excesiva del transductor se puede producir oclusión del vaso con la reducción concomitante de la señal, una almohadilla de gel de punto muerto puede reducir esta tendencia, Además, existen problemas potenciales con la reproducibilidad basadas en la variabilidad intra-e inter-observador y el uso de diferentes equipos (18).

¿Pueden los marcadores angiogénicos predecir el resultado de la enfermedad?

Existen reportes de estudios en los que se ha demostrado que los niveles séricos de VEGF elevados, se correlacionan directamente con desarrollo de cambios radiográficos en los años subsecuentes dichas evaluaciones fueron realizadas en estudios radiográficos de manos y pies. También se ha observado que los pacientes con Artritis Reumatoide con actividad de la enfermedad a pesar de la persistencia con terapia convencional tiene concentraciones relativamente altas de VEGF en suero en la primera presentación. Si se confirma en series más amplias, estas observaciones apoyarían el caso de que la introducción temprana de un régimen terapéutico más agresivo en los pacientes con niveles muy elevados de VEGF en suero podría presentar mejor respuesta y menor daño lo anterior valorado y corroborado en dichos estudios por medio de ultrasonido Doppler. Los pacientes con alta actividad de la enfermedad de base, según la evaluación con Doppler Poder, pueden obtener el máximo beneficio del tratamiento anti-TNF con respecto a la detención de los daños estructurales a nivel de las articulaciones.

En conjunto las observaciones encontradas en dichos estudios justifican la hipótesis de que la medición sérica de los marcadores angiogénicos entre ellos el

factor de crecimiento endovascular y la evaluación de imágenes por Poder Doppler se pueden utilizar para identificar a los pacientes con Artritis Reumatoide temprana que tienen mayor riesgo de daño articular acelerado y por lo tanto una intervención temprana con terapia más agresiva incluso con agentes biológicos estaría justificado para disminuir el daño a nivel de las articulaciones (19).

Hay estudios experimentales en los que se observa en forma importante la presencia de la angiopoyetina 1 y de la angiopoyetina 2 para la angiogenesis esto observado en tejido sinovial de pacientes con artritis reumatoide .

Observando que la angiopoyetina 1 es importante en el mantenimiento de los vasos sanguíneos y la angiopoyetina 2 es importante en las regiones donde existe una marcada angiopoyesis , también se ha observado que los niveles séricos de VEGF sirven como un índice de severidad en la destrucción articular de la artritis reumatoide , sin embargo esto solo se ha observado en pocos estudios comparando tanto a la angiopoyetina 1 y a la angiopoyetina 2 , encontrando en un estudio una correlación directa de los niveles de angiopoyetina 1 con la velocidad de sedimentación globular .

En un estudio realizado para medición de los niveles de factores angiogénicos entre los que se incluyeron el VEGF , Ang1 y Ang2 en 70 pacientes los cuales cumplían con criterios diagnóstico de la ACR de 1987 , 55 mujeres y 15 hombres , con una edad promedio de 56.2 +- 13.5 (rango de 24-85)años , las muestras séricas obtenidas de los pacientes debían de almacenarse a una temperatura de menos 40 grados hasta en un termino máximo de 3 meses , la determinación fue realizada por medio de ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA).

Así mismo hicieron valoración de la actividad por medio de ultrasonido, con ultrasonido poder Doppler con un transductor oscuro de matriz lineal (10 MHz; GE Healthcare, Waukesha, WI, USA). Siendo la frecuencia del pulso de repetición agrupado a niveles más bajos en el rango tolerado para evaluar la máxima sensibilidad de 500 a 750 Hz usando filtros de pared baja, el rango dinámico fue conjuntado de 20 a 40 dB. El Ultrasonido de poder Doppler poder fue realizado en 10 articulaciones: Hombros bilaterales, codos, carpos, rodillas y tobillos, la prueba fue después aplicada a los recesos posteriores, inserción del tendón del bíceps, y bursa subdeltoidea en el hombro, los recesos posterior y anterior del los codos, receso dorsal de carpo, inserción de los tendones flexores y extensores a nivel de carpo, suprapatelar, a nivel de los recesos patelar medial y lateral de las rodillas y a nivel de las inserciones del tendón a nivel de tobillos a nivel anterior posterior y lateral. Las señales del flujo sanguíneo en varios sitios de la membrana sinovial fueron graduados en el siguiente score: Grado 1. No flujo (0 puntos), grado 2 flujo de leve a moderado (1 punto), grado 3: flujo intenso (2 puntos). En los resultados obtenidos de dicho estudio se encontraron una relación estrecha entre los niveles de VEGF con la PCR sérica, así como una relación directa entre VEGF y angiopoyetina 1 pero no con la angiopoyetina 2. También se observó que existe correlación de los niveles séricos de VEGF con el flujo sanguíneo a nivel de la sinovia, a nivel del carpo. a diferencia de otros estudios en donde no se ha encontrado dicha correlación (20).

Técnicas de imagen para evaluación de la vasculatura sinovial en la Artritis Reumatoide

La alta velocidad del flujo sanguíneo en los grandes vasos pueden ser evaluados con técnicas convencionales de ultrasonido Doppler color , sin embargo a nivel de la microvasculatura como en la sinovitis en la artritis Reumatoide el flujo sanguíneo esta a un flujo muy lento , que no puede ser detectada por técnicas de sonografía Doppler color convencional , la ultrasonografía con poder Doppler amplia el espectro de la densidad en la señal Doppler y es el método más sensible para demostrar la presencia de flujo sanguíneo en los pequeños vasos , El ultrasonido poder Doppler es capaz de detectar hiperemia inflamatoria en sinovitis de la artritis reumatoide , sin embargo la intensidad de señal en la imagen del poder Doppler de sinovitis en la rodilla de pacientes con artritis reumatoide se correlaciona bien con la evaluación histológica de la microvasculatura de la membrana sinovial , la densidad del tejido tomado en la artroscopia (22).

La evaluación cuantitativa de las articulaciones metacarpofalángicas de la vascularidad del sinovio en las articulaciones metacarpofalángicas de los pacientes con artritis reumatoide demostrado por poder Doppler , se ha correlacionado con la velocidad de sedimentación globular (23) Se ha observado en cohortes de pacientes con artritis reumatoide temprana (< de 3 años de evolución) una fuerte asociación entre la presencia de erosión ósea en las articulaciones metacarpofalángicas y un incremento en el flujo sanguíneo intraarticular , en el sitio del daño articular (24) .La imagen por laser Doppler en las articulaciones metacarpofalángicas en la artritis reumatoide también se ha reportado correlación con los scores de dolor , y detectan la sinovitis por medio de la escala de grises con ultrasonido de alta resolución .Otros medios de imagen

que han sido de utilidad para la evaluación de la progresión de la enfermedad es la resonancia magnética de las metacarpofalángicas y su diferenciación de la presencia de derrame y la proliferación sinovial a incrementado gracias al uso de medios de agentes de contraste paramagnéticos , la mejoría temprana al introducir gadolinium a la membrana permite una evaluación dinámica con la resonancia magnética (25).

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:**

¿El uso de marcadores angiogénicos; como el factor de crecimiento endovascular puede predecir el nivel de actividad de la artritis reumatoide?

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

### **JUSTIFICACION:**

La necesidad de contar con otras herramientas así como nuevos marcadores fidedignos para valorar la actividad de la artritis reumatoide en nuestro hospital

### **OBJETIVOS:**

Entre los principales objetivos que se buscan al realizar este estudio se encuentran :

#### **Objetivo General:**

Conocer el nivel de actividad de la artritis reumatoide en los pacientes del servicio de reumatología del Hospital Juárez de México con medición del factor de crecimiento endovascular como marcador

**Objetivos específicos:** valorar la utilidad del factor de crecimiento endovascular como marcador fidedigno de actividad de la artritis reumatoide

## **HIPOTESIS**

La angiogénesis se define como la formación de nuevos capilares a partir de vasos preexistentes en la cual pueden intervenir un número de factores solubles y unidos a células que pueden estimular el proceso de neovascularización su perpetuación implica la participación de numerosas sustancias mediadoras solubles que se encuentran unidos a la superficie de las células y se ha asociado con la artritis reumatoide (AR) . Entre estos mediadores angiogénicos se incluyen a los factores de crecimiento, siendo el principal el factor de crecimiento endotelial vascular ( VEGF ) así como los factores inducibles por hipoxia ( HIF ) , citocinas proinflamatorias, quimiocinas, varios componentes de la matriz , moléculas de adhesión celular, proteasas, y otros. El factor de crecimiento vascular (VEGF) probablemente es el factor angiogénico más conocido asociado con artritis reumatoide , así como en otros tipos de inflamación crónica y en neoplasias. El VEGF induce directamente la angiogénesis. Además, de otros mediadores angiogénicos entre las que se encuentran incluidas la interleucina-6 (IL-6), IL-17, IL-18, el óxido nítrico , factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factores inhibidores de la migración de macrófagos (FOMIN), la endotelina-1 (ET-1), y activan al VEGF a través de la vía de los prostanoideos . Por lo que la medición del factor de crecimiento endovascular puede ser un marcador de actividad de la artritis reumatoide ya que a nivel del pannus en la artritis reumatoide se encuentran elevadas las necesidades metabólicas por lo que la angiogenesis se encuentra aumentada y el factor de crecimiento endovascular también debe de estar incrementado

## **TIPO DE ESTUDIO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION:**

Transversal , descriptivo , observacional

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN.**

CRITERIOS DE INCLUSIÓN – pacientes entre 18 y 65 años de edad, atendidos en el HJM en el servicio de reumatología, con diagnóstico de AR, acorde a los criterios ACR/EULAR 2010, firma del consentimiento informado.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN – proceso infeccioso activo, coexistencia de enfermedad autoinmune, antecedente de neoplasia activa, embarazo.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN : retiro del consentimiento informado , muestra insuficiente

## **METODOLOGIA:**

- 1.-recolección de muestras de suero de los pacientes que acuden al servicio de reumatología del HJM los días martes de cada semana
- 2.-Listado de los pacientes seleccionados según los criterios de selección
- 3.-se realizara estudio de ultrasonido poder doppler a los pacintesseleccionados el dia jueves de cada semana por medico reumatólogo con entrenamiento especializado en ultrasonido musculoesquelético.
- 4.-Se hara captura de variables ;los cuales serán procesados en una hoja de cálculo en computadora personal
- 6.-Se realizara el procesamiento de la medición por ELISA del VEGF
- 7.-Se realizará el análisis de los datos

## **DEFINICION DE VARIABLES DEL ESTUDIO:**

1.- Variable Independiente

Artritis Reumatoide , tipo cualitativa, politómica, ordinal.

2.- Variables Dependientes

VEGF, tipo cuantitativa continúa , unidad de medida pg/ml

Poder Doppler Tipo cuantitativa continúa.

**TAMAÑO DE LA MUESTRA :** 34 Pacientes

## **ANALISIS ESTADISTICO:**

**PRUEBAS ESTADÍSTICAS:** Descripción de variables mediante medidas de resumen, análisis inferencial mediante coeficiente de correlación de acuerdo al análisis de homogeneidad mediante la prueba de Pearson

## **CONSIDERACIONES ETICAS**

Nivel de Riesgo: Mínimo

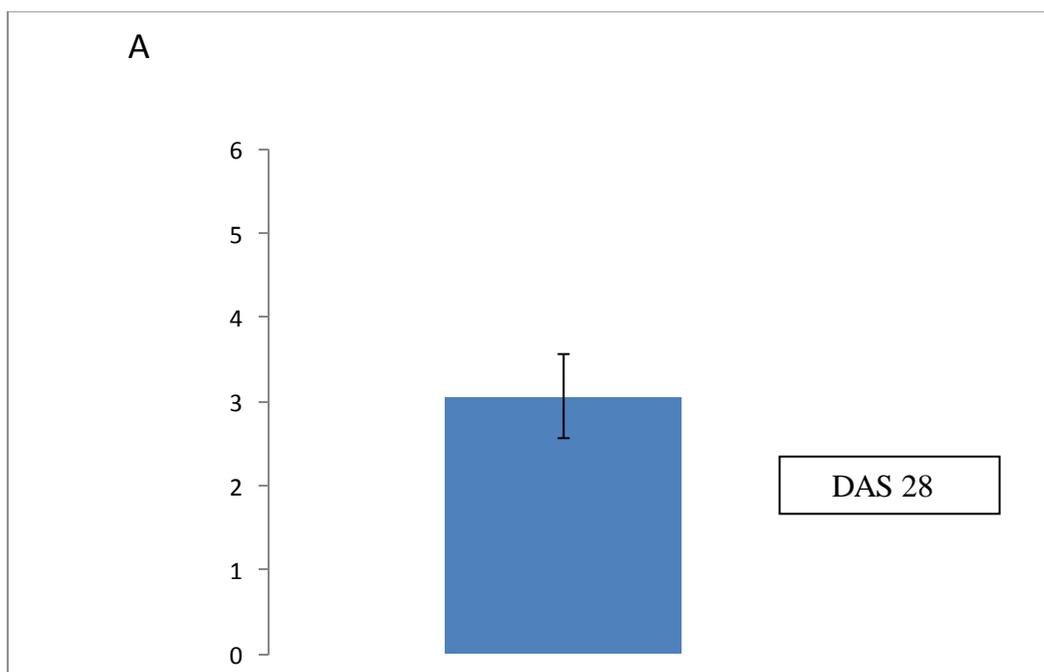
Ser sometidos a comités de investigación y ética

## RESULTADOS

La media reportada en este grupo de pacientes se encuentra dentro de parámetros de actividad de la enfermedad en , dentro de la escala de DAS28 se considera de actividad moderada , en cuanto a los niveles de factor de crecimiento endovascular se observa incremento de este factor asociado a la actividad de la enfermedad medida por DAS28 y por ultrasonido musculoesquelético .

Ver tabla 1

En cuanto a la correlación se observa una correlación con una P significativa entre la actividad de la enfermedad medida por DAS28 y los niveles séricos del factor de crecimiento endovascular , así también se observa una correlación significativa positiva con la actividad de la enfermedad y la actividad valorada por ultrasonido poder doppler .Ver tabla 2



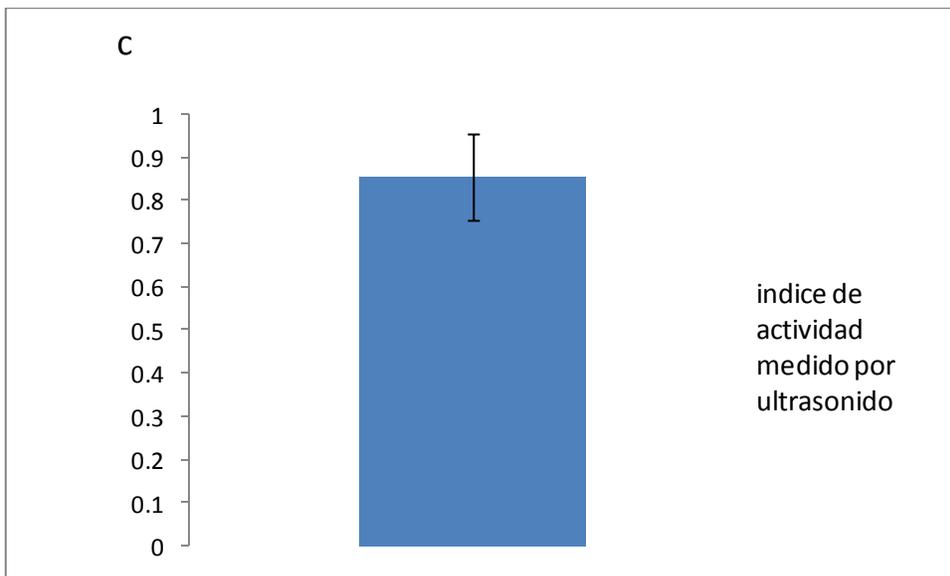
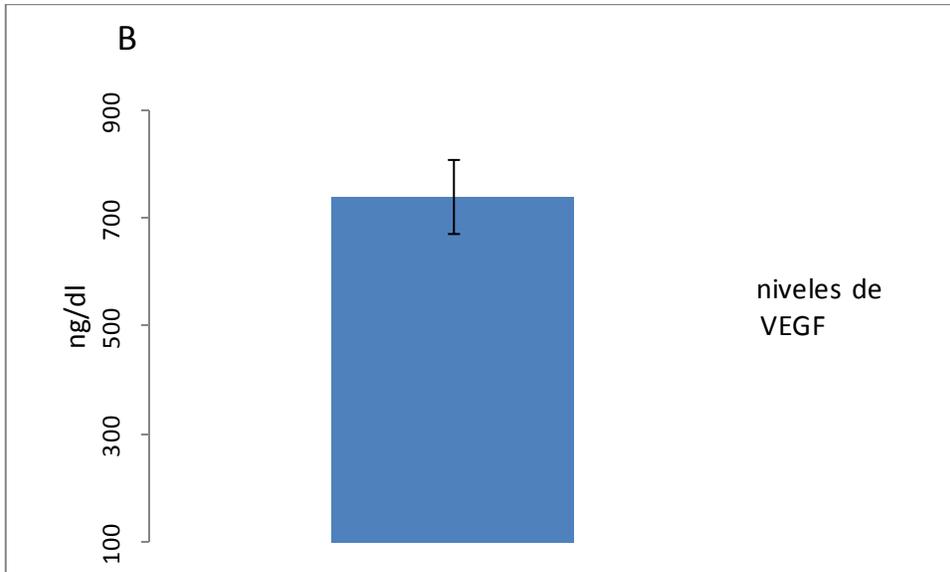


Fig. 1 muestra los niveles (A) actividad de la enfermedad medido por DAS28,(B)Niveles séricos de factor de crecimiento endovascular y (C)Indice de actividad medido por ultrasonido musculoesquelético .de pacientes con artritis reumatoide n=34

**Tabla 2 correlaciones entre actividad de la artritis reumatoide (DAS28) y los niveles séricos de factor de crecimiento endovascular Y Poder doppler de pacientes con artritis reumatoide**

|                              | VEGF   | PD    |
|------------------------------|--------|-------|
| DAS28                        | .439** | .377* |
| Significancia de correlación | .009   | .028  |

\*\* p< 0.01

\*p< 0.05

Correlación de Pearson , n=34

## DISCUSIÓN

La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmunitaria , crónica de etiología desconocida, caracterizada por inflamación articular persistente en el tejido sinovial que genera destrucción del cartílago y del hueso con pérdida completa de la estructura articular que también produce afectación sistémica con cambios patológicos en distintos organos y tejidos, los avances en el entendimiento de la patogenia de la artritis reumatoidea ha permitido también tener avances en la terapia, así mismo varias manifestaciones de la enfermedad como la vasculitis , formación de nódulos , otros como escleritis y amiloidosis se asocian con inflamación persistente no controlada dentro de las herramienta actuales con las que se cuentan actualmente para valorar la actividad de la enfermedad se encuentran el DAS 28 y actualmente también se esta valorando la utilidad del ultrasonido musculoesquelético poder doppler para valorar la actividad de la enfermedad ya que existen estudios previos en los que se ha observado que el proceso de angiogenesis se encuentra elevado y un medio de cómo valorar este proceso es por medio del ultrasonido doppler .además de que al encontrarse la angiogenesis elevada uno de los factores directamente relacionado con este proceso es el factor de crecimiento endovascular por lo que la medición de este factor puede correlacionarse directamente a la actividad de la enfermedad.

La angiogenesis esta claramente reconocido como un proceso importante en el desarrollo y perpetuación de de la artritis reumatoide por lo que en este estudio se correlaciono los niveles de DAS28 y los niveles séricos de factor de crecimiento endovascular así como el ultrasonido musculoesquelético poder

doppler , , existe el antecedente del estudio de strunk et al. en el que se observó una relación entre los niveles séricos de VEGF y las señales de flujo sanguíneo sinovial , otro estudio reporta que los niveles séricos de VEGF se correlacionan con los niveles de señalización en el flujo sanguíneo sinovial , en nuestro estudio se encontró una correlación significativamente importante en cuanto al DAS28 correlacionado con los niveles séricos de VEGF con  $P < 0.01$ , y una correlación también significativa de  $< 0,05$  con el ultrasonido musculoesquelético por lo que estas herramientas pueden ser utilizadas con gran significancia para valorar la actividad de la enfermedad y así poder tomar decisiones terapéuticas .

## **CONCLUSIONES**

1.-los niveles de DAS 28 entran dentro de los rangos de actividad moderada

2.-Los niveles de factor de crecimiento endovascular en pacientes con artritis reumatoide fueron en promedio desde el valor mas bajo de 369.015401 y el más elevado de 1745.4908 con una media 739.707856

3.-Los valores de poder doppler fueron en promedio 0.8529

4.-Existe una correlación positiva entre los valores de VEGF, DAS28 Y PODER DOPLER

Por lo que se concluye que el factor de crecimiento endovascular asi como el ultrasonido poder doppler pueden ser herramientas útiles en cuento a método de valoración de la actividad de la artritis reumatoide .

## BIBLIOGRAFIA

- 1.-Iain B.McInnes,F.R.C.P ,and Georg Schett M.D. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis, *N Engl J Med* 2011 ;365:2205-19.
- 2.-Burgos-Vargas R,Catoggio L,Galarza-Maldonado C,et al.Current therapies in rheumatoid arthritis:a Latin American perspective.*Reumatologic clinic* 2013.
- 3.- Aldo M. Roccaro\*, Francesca Russo, Teresa Cirulli, Guilia Di Pietro, Angelo Vacca and Franco Dammacco Antiangiogenesis for Rheumatoid Arthritis *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy*, 2005, 4, 27-30.
- 4.- Matsuno, H.; Yudoh, K.; Uzuki, M.; Nakazawa, F.; Sawai, T.;Yamaguchi, N.; Olsen, B.R.; Kimura, T. *J. Rheumatol.*, 2002, 29, 890.
- 5.- Alessandra Marrelli a,□, Paola Cipriani a, Vasiliki Liakouli a, Francesco Carubbi a, Carlo Perricone b,Roberto Perricone c, Roberto Giacomelli. Angiogenesis in rheumatoid arthritis: A disease specific process or a common response to chronic inflammation?. *Autoimmunity Reviews* 10 (2011) 595–598.
- 6.-Del Rey MJ, Izquierdo E, Caja S, Usategui A, Santiago B, Galindo M, et al. Human inflammatory synovial fibroblasts induce enhanced myeloid cell recruitment and angiogenesis through a hypoxia-inducible transcription factor 1alpha/vascular endothelial growth factor-mediated pathway in immunodeficient mice. *Arthritis Rheum* 2009;10:2926–34.
- 7.-Ewa M Paleolog. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2002, 4 (suppl 3):S81-S90.
- 8.- Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z: Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J*1999, 13:9-22.
- 9.- Ferrara N: Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001, 280:C1358-1366.
- 10.- Zoltán Szekanecz , Alisa E. Koch. Angiogenesis and its targeting in rheumatoid arthritis. *Vascular Pharmacology* 51 (2009): 1–7.
- 11.-Brennan, F., Beech, J.. Update on cytokines in rheumatoid arthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2007: 19, 296–301.
- 12.- Liu, L.X., Lu, H., Luo, Y., Date, T., Belanger, A.J., Vincent, K.A., Akita, G.Y., Goldberg, M.,Cheng, S.H., Gregory, R.J., Jiang, C. Stabilization of vascular

endothelial growth factor mRNA by hypoxia-inducible factor 1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002;291:908–914.

13.- Manish Jain, M.D., and Jonathan Samuels, M.D. Musculoskeletal Ultrasound as a Diagnostic and Prognostic Tool in Rheumatoid Arthritis *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 2011;69(3):215-9.

14.- Cheung PP, Dougados M, Gossec L. Reliability of ultrasonography to detect synovitis in rheumatoid arthritis: a systematic literature review of 35 studies (1,415 patients). *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2010;62(3):323-34.

15.- Freeston JE, Brown AK, Hensor EM, et al. Extremity magnetic resonance imaging assessment of synovitis (without contrast) in rheumatoid arthritis may be less accurate than power Doppler ultrasound. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(9):1351.

16.- P. C. Taylor Serum vascular markers and vascular imaging in assessment of rheumatoid arthritis disease activity and response to therapy *Rheumatology* 2005;44:721–728.

17.- Ballara S, Taylor PC, Reusch P, Marme D, Maini RN, Paleolog E. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and soluble VEGF receptor in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum* 2001;44: 2055–64.

18.- Szkudlarek M, Court-Payen M, Jacobsen S, Klarlund M, Thomsen HS, Ostergaard M. Interobserver agreement in ultrasonography of the finger and toe joints in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003;48:955–62.

19.- Fiocco U, Ferro F, Cozzi L et al. Contrast medium in power Doppler ultrasound for assessment of synovial vascularity: comparison with arthroscopy. *J Rheumatol* 2003;30:2170–6.

20.- Zoltán Szekanecz a, Alisa E. Koch Angiogenesis and its targeting in rheumatoid arthritis *Vascular Pharmacology* 51 (2009) 1–7.

21.- Peter C Taylor VEGF and imaging of vessels in rheumatoid arthritis: *Arthritis Res* 2002, 4 (suppl 3):S99-S107.

22.- van der Heijde D: How to read radiographs according to the Sharp/van der Heijde method. *J Rheumatol* 2000, 27:261-263.

23.- Peter C Taylor The value of sensitive imaging modalities in rheumatoid arthritis: *Arthritis Res Ther* 2003, 5:210-213.

24.-Wakefield RJ, Gibbon WW, Conaghan PG, O'Connor P, McGonagle D, Pease C, Green MJ, Veale DJ, Isaacs JD, Emery P: The value of sonography in the detection of bone erosions in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000, 43: 2762-2770.

25.- McGonagle D, Conaghan P, O'Connor, Gibbon W, Green M, Wakefield RJ, Ridgway J, Emery P: The relationship between synovitis and bone changes in early untreated rheumatoid arthritis. A controlled magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum* 1999, 42:1706-1711.

26.- Tanu Talwar and Madakasira Vasantha Padma Srivastana. Role of vascular endothelial growth factor and other growth factors in post-stroke recovery. *Ann Indian Acad Neurol*. 2014 Jan-Mar; 17(1): 1–6.

27.- D'Arcangelo D, Facchiano F, Barlucchi LM, Melillo G, Illi B, Testolin L, et al. Acidosis inhibits endothelial cell apoptosis and function and induces basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor expression. *Circ Res*. 2000;86:312–8.

28.- Madri JA, Williams KS. Capillary endothelial cell cultures: Phenotypic modulation by matrix components. *J Cell Biol* 1983;97:153–165.

29.- Byrne AM, Bouchier-Hayes DJ, Harmey JH. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor (VEGF) *J Cell Mol Med*. 2005;9:777–94.

30.-GerberH-P ,Hillan KJ, Ryan AM, Kowaski J.Keller G-A ,Rangell L, et al. VEGF is required for growth and survival in neonatal 1999;126(6):1149-59.