

Estudio genético de la espondilitis anquilosante en la población gallega: determinación de los subtipos de HLA-B27 mediante PCR con cebadores de secuencia específica

Ponente: J.L. Fernández Sueiro.

Directores: Dr. Francisco Javier Blanco García y Dr. Francisco Javier de Toro Santos.

Hospital: Hospital Juan Canalejo.

Universidad: Universidad de A Coruña.

Objetivos

Determinar la prevalencia del HLA-B27 en la población gallega y estudiar los subtipos HLA-B27 presentes en la población sana y los asociados a la espondilitis anquilosante (EA).

Pacientes y métodos

Un total de 106 pacientes gallegos con diagnóstico de EA de acuerdo con los criterios del Grupo de Estudio Europeo para las Espondiloartropatías fueron seleccionados en tres grandes hospitales de la Comunidad Gallega (La Coruña, Lugo y Orense). La prevalencia del HLA-B27 se determinó observando el número de donantes gallegos de órganos HLA-B27 positivos del Servicio de Inmunología del Hospital Juan Canalejo. El HLA-B27 se determinó mediante PCR empleando los «primers E91s y E136as». Los subtipos desde el HLA-B*2701 hasta el B*27011 se determinaron con un kit comercial DYNAL HLA-B27 high resolution-SSP (Oslo, Noruega).

Resultados

De un total de 150 donantes de órganos examinados durante 2 años, 13 muestras fueron HLA-B27 positivas. La prevalencia del HLA-B27 fue del 9,33%. De los 106 pacientes con EA estudiados, 100 pacientes (94,3%) fueron HLA-B27 positivos. Los subtipos de HLA-B27 en la población gallega sana se determinaron en 39 muestras HLA-B27 positivas; de éstas, 31 fueron HLA-B*2705 (79%), 7 fueron HLA-B*2702 (17%) y 1 HLA-B*2708 (2,5%). Los subtipos HLA-B*2701, 09 y 10 no se hallaron en nuestra población en este estudio. Los subtipos hallados en los pacientes con EA fueron el HLA-B*2705 en 88 pacientes (88%) y el HLA-B*2702 en 12 pacientes (12%).

Conclusiones

La prevalencia del HLA-B27 en la población gallega es más alta que la previamente publicada en España; 9,33 frente a 4,69%. Los subtipos presentes en la población gallega sana son el HLA-B*2702, 05 y 08. El 94,3% de los pacientes con EA son HLA-B27 positivos. Los subtipos de HLA-B27 asociados a EA en Galicia en el presente estudio son el HLA-B*2705 y el B*2702.

Estudio de la regulación de la expresión de quimioquinas en fibroblastos dérmicos en la esclerosis sistémica

Ponente: María Galindo Izquierdo.

Director: Dr. José Luis Pablos Álvarez.

Hospital: Hospital 12 de Octubre.

Universidad: Universidad Complutense de Madrid.

Objetivos

Estudiar el patrón de expresión de las quimioquinas por los fibroblastos dérmicos (FD) en adultos sanos así como identificar la posible regulación de la expresión de estas quimioquinas en relación con cambios redox, fundamentalmente a través de la activación del factor de transcripción NF-κB. Estudiar el potencial biológico de las quimioquinas sintetizadas por los FD sobre la quimiotaxis de células inflamatorias, y sobre la proliferación y síntesis de colágeno en fibroblastos. Identificar posibles diferencias entre los FD sanos y los procedentes de pacientes con ES en el patrón de expresión de quimioquinas, en la respuesta al estímulo redox y en la regulación de dicha expresión. Por último, confirmar la expresión *in vivo* de quimioquinas por los FD en secciones de piel normal y esclerodérmica.

Material y métodos

Las muestras de piel se obtuvieron de 7 pacientes con ES difusa y 7 controles sanos, con las mismas características en cuanto a edad y sexo. La expresión de ARNm de quimioquinas se analizó por ensayo de protección de la RNasa con una sonda múltiple comercial de ADN para Ltn, RANTES, IP-10, MIP-1α, MIP-1β, MCP-1, IL-8, I-309. La concentración de la proteína MCP-1 secretada por los FD al medio de cultivo se cuantificó mediante ELISA. El efecto quimiotáctico de la proteína MCP-1 secretada por los FD sobre las células monocíticas MonoMac se analizó en cámaras Boyden de migración. La detección de NF-κB y AP-1 se realizó por la técnica de retardo en gel. La expresión de MCP-1 *in vivo* se analizó por inmunohistoquímica. El efecto de MCP-1 sobre la expresión de procolágeno α1(I) se analizó por Northern blot. Se analizó el efecto de diferentes concentraciones de MCP-1 sobre la proliferación de FD subconfluentes. Análisis estadístico.

Resultados

Los FD son capaces de expresar constitutivamente MCP-1 e IL-8, y la síntesis de estas quimioquinas aumenta tras la exposición a hipoxia/reoxigenación. A diferencia de los FD sanos, aquellos de piel esclerodérmica presentan una expresión constitutiva de MCP-1 aumentada, que no se modifica significativamente tras la exposición al estrés oxidativo.

y que no parece dependiente de la activación de NF- κ B y AP-1. En ambos tipos de FD, la proteína MCP-1 secretada es quimiotáctica para células mononucleares y, de manera muy heterogénea, parece estar implicada en la expresión de procolágeno α 1(I). Estos resultados se han confirmado *in vivo* por inmunohistoquímica, ya que sólo se ha observado expresión de MCP-1 en las muestras de piel esclerodérmica. La expresión de MCP-1 en estas muestras se extiende a los queratinocitos de las capas profundas de la epidermis y a las células mononucleares además de a los FD.

Conclusiones

Los FD pueden participar en la respuesta inflamatoria con capacidad para reclutar leucocitos mediante la síntesis de MCP-1 e IL-8 e, *in vitro*, responden a la hipoxia con un aumento en la expresión y secreción de MCP-1 que es, en parte, dependiente de la activación de los factores de transcripción NF- κ B y AP-1. La proteína MCP-1 ejerce *in vitro* un efecto quimiotáctico sobre células mononucleares. Los FD de la ES presentan *in vitro* una elevada expresión constitutiva de MCP-1 e IL-8 y una menor respuesta a la hipoxia y/o reoxigenación. Estas alteraciones no se deben a diferencias en la activación basal de NF- κ B y AP-1. Estos resultados se confirman *in vivo* en secciones de piel esclerodérmica.

Aspectos epidemiológicos, morfológicos, clínicos y pronósticos de las vasculitis en el área sanitaria de Lugo

Ponente: Carlos García Porrúa.

Directores: Dr. Miguel A. González-Gay y Dr. Javier de Toro Santos.

Hospital: Hospital Xeral-Calde.

Universidad: Universidad de A Coruña.

Introducción y objetivo

El uso de diferentes criterios de clasificación y el desconocimiento de la etiopatogénesis de las vasculitis lleva a una disparidad en su incidencia. Estudiamos la incidencia y características de las vasculitis en el área de Lugo.

Material y métodos

Hemos revisado las historias clínicas de los pacientes mayores de 20 años, diagnosticados de vasculitis confirmada mediante biopsia en el Hospital Xeral-Calde (Lugo) desde enero de 1988 hasta diciembre de 1997. El promedio anual de incidencia fue calculado como la incidencia en el período de 10 años dividido por 10.

Resultados

Doscientos veintisiete adultos fueron diagnosticados de vasculitis. El promedio de incidencia anual para mayores de 20 años en el área de Lugo entre 1988 y 1997 fue de 141,54/millón. Las vasculitis primarias

(115,03/millón; 81,3%), especialmente la arteritis de células gigantes (ACG), constituyeron el grupo más frecuente. Las vasculitis de pequeño vaso (vasculitis de hipersensibilidad y púrpura de Henoch-Schönlein) fueron el segundo grupo más frecuente. Tanto la ACG como las vasculitis de pequeño vaso tuvieron buen pronóstico. Sin embargo, los pacientes con vasculitis primaria de mediano y pequeño vaso, en concreto aquellos con poliarteritis nudosa, tuvieron una alta mortalidad en relación con las manifestaciones sistémicas de su enfermedad o la terapia inmunosupresora. En el grupo de adultos con vasculitis secundaria (26,51/millón; 18,7%), la artritis reumatoide fue la más frecuente.

Conclusión

Las vasculitis sistémicas son más frecuentes de lo que se había considerado. Al igual que en otros países europeos, la ACG constituye el tipo de vasculitis más frecuente en el área de Lugo.

Enfermedad inflamatoria intestinal subclínica en espondilartritis, identificación mediante gammagrafía intestinal con leucocitos marcados con tecnecio 99-HMPAO

Ponente: M.L. González Gómez.

Directores: Dr. F. Valderrábano Quintana

y Prof. Dr. L. Carreño Pérez.

Hospital: Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Universidad: Universidad Complutense de Madrid.

Introducción

La gammagrafía intestinal con leucocitos marcados con ^{99m}Tc -hexametil-propil-aminoxina (HMPAO) permite detectar inflamación intestinal subclínica en algunos pacientes con espondilartropatía seronegativa (ES) sin evidencia clínica de enfermedad inflamatoria intestinal (EII).

Objetivos

Detectar inflamación intestinal en pacientes con espondilartritis sin síntomas de enfermedad intestinal; estudiar las características clínicas asociadas al aumento de captación intestinal; estudiar las correlaciones existentes entre la actividad de la enfermedad y los hallazgos isotópicos; establecer si existe concordancia con la ileocolonoscopia.

Pacientes y métodos

Se realizó gammagrafía intestinal a 141 pacientes con ES (criterios EESG) sin signos ni síntomas de EII y a 35 pacientes tratados con antiinflamatorios por procesos reumáticos no relacionados con espondilartritis ni enfermedad inflamatoria intestinal. En 25 pacientes con un primer estudio positivo, se realizó un segundo control de escintigrafía. Además, en 14 pacientes con estudio positivo se realizó colonoscopia. Las imágenes gammagráficas se

clasificaron desde 1 (leve) a 4 (intensa). Mejoría y remisión fueron definidas como disminución y ausencia de síntomas, respectivamente.

Resultados

La gammagrafía fue positiva en 64 pacientes (45,4%) con ES. La localización más frecuente fue el colon descendente (23,4%), seguido por el colon ascendente (17,7%) y el íleon terminal (11,3%). Los grados intermedios 2 y 3 fueron los hallados con mayor frecuencia.

Por diagnósticos, los hallazgos son más frecuentes en la espondilartritis indiferenciada seguido por la espondilitis anquilosante. La positividad de la gammagrafía no se asocia con ningún parámetro estudiado salvo con la actividad de la enfermedad. En 11 de los 14 pacientes sometidos a colonoscopia (78%) se objetivaron lesiones de imagen o histológicas. La gammagrafía fue positiva en 3 pacientes controles (8,5%). En un paciente con artritis séptica se debió a un absceso intraabdominal y en otro paciente con lumbalgia mecánica se demostró una diverticulitis.

Conclusiones

El 50% de los pacientes con ES sin datos de EII presentan inflamación intestinal subclínica demostrada por gammagrafía intestinal. Existe correlación entre los hallazgos gammagráficos e histológicos, y ambos son diferentes a los observados en la enfermedad inflamatoria intestinal crónica. La captación isotópica se relaciona con la actividad de la enfermedad y no con manifestaciones clínicas concretas. Tampoco se relaciona con la ingesta de antiinflamatorios no esteroideos. La normalización de la escintigrafía se acompaña generalmente de remisión o mejoría clínica de la enfermedad, y es útil para controlar la respuesta terapéutica.

Valoración de la actividad inflamatoria en la espondilartritis anquilosante (EA) y su relación con la amiloidosis y la osteoporosis

Ponente: J. Gratacós Masmitjà.

Directores: Dr. J. Muñoz-Gómez y Dr. A. Collado Cruz.

Hospital: CSPT Sabadell.

Universidad: Universidad de Barcelona.

Tesis que consta de tres estudios que analizan la actividad inflamatoria en la EA y su influencia en la amiloidosis y la osteoporosis.

Objetivos

Analizar en los pacientes con EA: 1) el perfil sérico de las citocinas y su relación con la actividad y gravedad de la enfermedad; 2) la prevalencia de amiloidosis, su relación con la actividad y sus implicaciones clínicas, y 3) la relación entre la actividad inflamatoria y la pérdida de masa ósea.

Material y métodos

1) Estudio transversal de los niveles séricos de IL-6 (TNF α , IL-1 β , IFN γ) en 69 pacientes con EA y su relación con la actividad y gravedad de la enfermedad. Comparación con un grupo control de 43 pacientes con AR y 36 pacientes con lumbalgia no inflamatoria. 2) Valoración de la prevalencia de amiloidosis a través de la biopsia de grasa subcutánea abdominal en 137 pacientes con EA y su relación con actividad y gravedad de la enfermedad. Seguimiento durante $5,4 \pm 3,2$ años (2-10) de las consecuencias clínicas de esta complicación. 3) Estudio longitudinal 19 ± 2 meses (17-21) de la evolución de la masa ósea (vertebral y femoral) por densitometría radiológica dual en 34 pacientes con EA poco evolucionada y su relación con la actividad inflamatoria de la enfermedad valorada mediante parámetros biológicos (VSG y PCR).

Resultados

1) El perfil sérico de citocinas en la EA es tipo proinflamatorio (TNF α y especialmente IL-6) y la IL-6 se correlaciona bien con la actividad de la enfermedad (especialmente VSG y PCR). 2) La prevalencia de amiloidosis fue del 7%. Su presencia se asoció a la duración y gravedad de la enfermedad, aunque menos del 50% de pacientes con amiloidosis presentaron durante el seguimiento síntomas asociados a esta complicación. 3) Presencia de una clara relación entre pérdida de masa ósea y VSG ($1,0685-1,0012$ y $1,1403$, $p = 0,032$) y PCR ($2,4194-1,0895$ y $5,3729$, $p = 0,03$).

Conclusiones

La EA presenta, en sangre periférica, un perfil de citocinas de tipo proinflamatorio que se correlaciona bien con la actividad de la enfermedad. La amiloidosis es una complicación poco frecuente en la EA y su presencia no supone de forma sistemática un mal pronóstico clínico a corto-medio plazo. La actividad inflamatoria constituye la causa principal de la pérdida de masa ósea observada en pacientes con EA poco evolucionada.

Análisis de la activación anormal de los linfocitos T y B de pacientes con artritis reumatoide

Ponente: Sonia de Miguel Olalla.

Directores: Dres. Benjamín Fernández Gutiérrez y Juan Ángel Jover.

Hospital: Hospital Clínico San Carlos.

Universidad: Universidad Complutense de Madrid.

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por producir una inflamación crónica de las articulaciones. La membrana sinovial de éstas presenta una proliferación celular masiva y se encuentran citocinas proinflamatorias en el ambiente sinovial.

Analizamos dos moléculas de activación temprana,

CD23 y CD154, en la superficie de los linfocitos de pacientes con AR con el fin de determinar si existen diferencias en su expresión basal e inducción respecto al grupo control. Por otro lado, estudiamos si el tratamiento con un mAb anti-TNF α en los pacientes afecta a la expresión basal e inducción de estas moléculas de activación.

En primer lugar, observamos que CD23 está hipereexpresado en los linfocitos B de sangre periférica del grupo de pacientes con AR respecto al grupo control, y tras activación su inducción es mayor. La vía de activación CD40-CD154 está implicada en la expresión de CD23 y cuando analizamos la expresión basal de CD154 observamos que es mayor en los linfocitos Th de líquido sinovial de los pacientes con AR. Tras activar, sin embargo, la mayor inducción se observó en los linfocitos Th de sangre periférica de los pacientes con AR. Por otro lado, comprobamos la capacidad de los linfocitos T del líquido sinovial para inducir la expresión de CD23 en los linfocitos B de sangre periférica de estos pacientes.

En segundo lugar, observamos que el tratamiento con un mAb anti-TNF α en los pacientes produce una mayor inducción de CD23 en los linfocitos B de sangre periférica tras estímulo y una menor inducción de CD154 en los linfocitos Th de sangre periférica tras estímulos. Además de la vía de cooperación CD40-CD154, existen otros mecanismos que median en la inducción de CD23 en los linfocitos B de sangre periférica de los pacientes tratados. Estudiamos los sueros de los pacientes tratados y comprobamos la presencia de ICC TNF α -anti-TNF α , estos sueros fueron puestos en contacto con una población de linfocitos B purificados de amígdalas y se comprobó su capacidad para inducir la expresión de CD23.

Estudios genéticos de la enfermedad de Paget ósea: evidencia de heterogeneidad genética

Ponente: M.T. Navío Marco.

Directores: Dr. Martín Mola, Dr. Morales Piga y Dr. San Millán López.

Hospital: Hospital Ramón y Cajal.

Universidad: Universidad Autónoma de Madrid.

Introducción

La enfermedad de Paget (EP) es una enfermedad metabólica ósea de etiología poco conocida. Se ha documentado que del 15 al 40% de los pacientes con EP tienen una historia familiar positiva de enfermedad, y los familiares en primer grado de estos pacientes tienen un riesgo siete veces mayor de padecerla que los controles. Esta tendencia a la agregación familiar sugiere la existencia de factores genéticos.

Un estudio genético ha identificado que el gen que condiciona la osteólisis expansiva familiar (OEF), entidad similar y posible variante de la EP, se localiza en una región del cromosoma 18 (18q21.1-22) del genoma. En otro estudio también se ha identificado ligamiento genético significativo entre este gen y la EP familiar.

liza en una región del cromosoma 18 (18q21.1-22) del genoma. En otro estudio también se ha identificado ligamiento genético significativo entre este gen y la EP familiar.

Objetivos

El propósito principal de este trabajo es investigar si existe también ligamiento genético entre la región del cromosoma 18q21.1-q22 y la EP familiar en nuestro medio.

Material y métodos

Se realizaron estudios en 6 familias con miembros afectados de EP en seguimiento en el Servicio de Reumatología del Hospital Ramón y Cajal. El total de individuos estudiados ha sido de 89, de los cuales 25 estaban afectados de EP. Se llevó a cabo la cuantificación de fosfatasa alcalina y el estudio radiológico y gammagráfico de confirmación en los casos. Se aisló ADN de las muestras sanguíneas y se realizó la tipificación con microsatélites polimórficos por amplificación con PCR del ADN genómico. Posteriormente, se realizó análisis de ligamiento a dos puntos y multifactorial por el método estadístico *lod score*. Se acepta que no existe ligamiento genético si la suma de *lod scores* es inferior a -2.

Resultados

Como resultado hemos evidenciado que no existe ligamiento genético entre la enfermedad, en las familias estudiadas, y el intervalo genético propuesto para la OEF y EP. El trabajo se ha completado con el estudio de regiones candidatas y un rastreo genómico completo descartando ligamiento.

Conclusiones

En conclusión, este trabajo demuestra que el gen de susceptibilidad propuesto en la EP no es el responsable de la enfermedad en familias españolas y evidencia que existe heterogeneidad genética no alélica, lo cual indica la existencia de una segunda localización genética en esta enfermedad.

Virus de la hepatitis C y autoinmunidad. Papel etiopatogénico del VHC en las enfermedades autoinmunes sistémicas

Ponente: Manuel Ramos i Casals.

Directores: Dr. Miguel Ingelmo Morín y Dr. Josep Font Franco.

Hospital: Hospital Clínico. Barcelona.

Universidad: Universidad de Barcelona.

Objetivos

Estudiar la prevalencia y las características clínicas de la infección por VHC en pacientes con enfermedades autoinmunes sistémicas (síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico) y el papel de la crioglobulinemia en la «simulación» de enfermedad autoinmune sistémica.

Material y métodos

Hemos analizado el papel del VHC y la crioglobulinemia en dos grupos de pacientes: 90 pacientes con síndrome de Sjögren (SS) y 134 pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES).

Resultados

En los 90 pacientes con SS hemos hallado un subgrupo de pacientes (14%) con infección por el VHC, con unas características clínicas e inmunológicas diferenciales. Además, el 47% de nuestros pacientes con SS y crioglobulinemia presentan infección crónica por VHC. En los 134 pacientes con LES hallamos un subgrupo de pacientes con infección por el VHC (11%), con unas características clínicas e inmunológicas diferenciales. Existen tres grupos diferenciados de pacientes con LES y anticuerpos antiVHC: 3 pacientes con un resultado falso positivo en el ELISA-3, 9 pacientes con un *lupus-like* secundario al VHC y 6 pacientes con

ambas patologías coexistentes (LES e infección VHC). La presencia de crioglobulinemia está asociada a muchas de las manifestaciones de tipo autoinmune (sean clínicas o serológicas) que presentan los pacientes con VHC.

Conclusiones

La infección crónica por VHC puede presentar unas características clínicas e inmunológicas que plantean un diagnóstico diferencial con determinadas enfermedades autoinmunes y no con otras. Los casos más claros son el síndrome de Sjögren (sequedad de mucosas, pruebas oculares positivas, infiltración linfocitaria glandular e inmunología positiva), el lupus eritematoso sistémico (cuadro articular, citopenias, afección renal, hipocomplementemia y ANA) y la artritis reumatoide (afección articular con FR positivo). La mayoría de estos pacientes VHC presenta datos clínicos y/o biológicos de afección hepática y síndrome crioglobulinémico.