

Efecto antibiótico *in vitro* sobre determinadas funciones de los polimorfonucleares neutrófilos de población con patologías reumáticas, con especial referencia a los enfermos con artritis reumatoide

Doctorando: José Valero Sáiz.

Directores: Dr. Victor Götzens y Dr. Jordi Obach.
Departamento de Ciencias Morfológicas. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona.

Se estudian 2 de las funciones de los polimorfonucleares (PMN): su capacidad de migración hacia un foco inflamatorio (quimiotaxis [QT]), y su capacidad de fagocitosis (quimiluminiscencia [CL]). Para ello se dispone de 2 técnicas: para la medida de la capacidad de migración se utilizó una variante de la QT de los PMN en soporte de agarosa, que utiliza como quimioatrayente el zymosan, según la técnica descrita por Adams, y para la medida de la capacidad de fagocitosis se utilizó la técnica de la CL adaptada de James.

El planteamiento del trabajo consiste en estudiar como afecta *in vitro* la presencia de ciertos antibióticos a dosis consideradas terapéuticas en la población normal, en algunas de las funciones de los PMN (capacidad de migración hacia un foco inflamatorio y su capacidad de fagocitosis) en población con artritis reumatoide. También se trata de ver qué diferencias existen, en estas funciones, con respecto a la población considerada normal.

La siguiente cuestión sería ajustar las dosis de estos antibióticos, cuando se precisen para alguna enfermedad añadida si es que las dosis no son correctas, como consecuencia de haber sido alterada alguna de las funciones anteriores.

Se estudian 3 antibióticos (ampicilina, gentamicina y cefuroxima) en una población con artritis reumatoide formada por 90 pacientes de edades comprendidas entre 43 y 82 años (63 mujeres y 27 varones) frente a una población sana formada por 10 varones y 9 mujeres de edades comprendidas entre 20 y 60 años.

Del estudio estadístico de los resultados obtenidos se concluye que los enfermos con artritis reumatoide tienen unos valores de CL (capacidad de fagocitosis) y de QT (capacidad de migración) disminuida con respecto a la población sana control, aunque no de una forma estadísticamente significativa.

Los 3 antibióticos inhiben la QT (capacidad de migración) de una forma estadísticamente significativa, frente a la población control.

No hay diferencias estadísticamente significativas entre los 3 antibióticos para esta inhibición, aunque la que más inhibe es la gentamicina.

Los 3 antibióticos estimulan la CL (capacidad de fagocitosis) tanto en la población sana como en la de control, pero no de forma estadísticamente signifi-

cativa. La ampicilina es el antibiótico que más aumenta la CL.

El sexo es un factor que no influye de forma significativa en ninguna de las variables anteriores, pero las mujeres tienen una QT (capacidad de migración) más elevada que los varones en ambas poblaciones, enfermos y controles. Los enfermos varones y mujeres en tratamiento inmunosupresor y con dosis bajas de corticoides presentan unos valores de CL estadísticamente disminuidos con respecto a la población sana control.

Con todo lo anterior, se concluye que es necesario vigilar las dosis de antibióticos que se han de administrar a este tipo de enfermos por el efecto que tienen sobre su QT.

Participación de los neuropéptidos: sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina y péptido intestinal vasoactivo en la inflamación articular. Correlación con la liberación de citocinas

Doctorando: Eugenio de Miguel Mendieta.

Directores: Dr. Francisco Arnalich Fernández y Dr. Juan Gijón Baños.

Servicio de Reumatología. Hospital la Paz.
Universidad Autónoma de Madrid.

Objetivos

Estudiar la participación del sistema nervioso y la respuesta neurógena en la inflamación articular. Como objetivos secundarios se estudia la correlación entre las concentraciones de neuropéptidos y la actividad inflamatoria en la artritis reumatoide y la interrelación entre efectores neurógenos e inmunes.

Material y métodos

Estudio prospectivo en 104 personas distribuidas en 4 grupos: 20 controles sanos, 20 pacientes con gota, 22 pacientes con artrosis y 42 con artritis reumatoide. Determinación de las concentraciones de los siguientes neuropéptidos: sustancia P (SP), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y péptido intestinal vasoactivo (VIP), mediante radioinmunoanálisis, y de las citocinas IL-1 β , IL-2, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) mediante radioinmunoanálisis y ELISA. Correlación de estas determinaciones con la actividad clínica en la artritis reumatoide.

Resultados

Se han encontrado mayores concentraciones de sustancia P y CGRP en el plasma de los pacientes con enfermedades inflamatorias articulares que en los controles sanos, y las diferencias son estadísticamente significativas al comparar la concentración de

CGRP de estos últimos con la de los pacientes con gota y artritis reumatoide. Asimismo, hemos hallado elevaciones significativas de neuropéptidos en el líquido sinovial de pacientes con procesos con marcada actividad inflamatoria como artritis reumatoide y gota, en oposición a los detectados en la artrosis, proceso con baja actividad inflamatoria, lo que sugiere la participación de estos péptidos en la inflamación articular. En cuanto al papel inmunomodulador de los neuropéptidos estudiados sobre la producción de citocinas encontramos numerosas correlaciones estadísticamente significativas entre neuropéptidos y citocinas, que apoyan el papel de la sustancia P sobre la activación de macrófagos y linfocitos y la inhibición sobre estas mismas células de VIP y CGRP, resalta también el hecho de que los neuropéptidos actúan como resultado de un balance biológico y no sólo como mediadores aislados.

Conclusiones

Los neuropéptidos estudiados aparecen elevados en el líquido sinovial en las enfermedades reumáticas con marcada actividad inflamatoria, y se ha detectado el papel inmunomodulador de estos neuropéptidos en la producción de citocinas.

Osteoporosis en la cirrosis hepática avanzada. Evolución tras trasplante hepático. Evolución de los mecanismos de osteopenia y su correlación con la síntesis de IGF-I

Doctorando: José María Pego Reigosa.

Directores: Dr. Jorge Augusto Quiroga y Dr. José Ignacio Herrero.

Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra.

Introducción

Se conoce poco el efecto del trasplante hepático (TH) sobre el hueso.

Objetivos

Evaluar: *a)* la incidencia de osteopenia y fracturas vertebrales (FV) en pacientes con cirrosis hepática avanzada (CHA) en espera de TH y ya trasplantados; *b)* el efecto del TH sobre la masa ósea (MO) y las FV; *c)* factores predictivos de MO baja y FV, y *d)* el papel del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I) y sus proteínas ligadoras BP1 y BP3 en la MO de estos enfermos.

Pacientes y métodos

Cuarenta y seis pacientes con CHA se distribuyeron del siguiente modo: grupo A ($n = 10$ en espera de TH) y grupo B ($n = 36$ trasplantados). Se evalúan en T1 (momento de su inclusión) y T2 (un año después

de T1). Se realizó valoración: *a)* clínica; *b)* analítica (parámetros del metabolismo óseo, IGF-I, IGFBP1 e IGFBP3); *c)* densitométrica, y *d)* radiológica.

Resultados

La prevalencia de OP en los grupos A y B fue del 10 y el 30%, respectivamente. La prevalencia de FV fue del 10 y el 25%, respectivamente. El primer año post-TH la MO desciende, sobre todo en la cadera (8%). Después asciende, sobre todo en los 12-24 meses post-TH (4-6%). Los valores pre-TH de fosfatasa alcalina (FA) y GGT y los valores de IGF-I e IGFBP3 en T1 predicen una MO baja. En pacientes trasplantados, el valor de IGF-I en T1 se asocia positivamente con el aumento de MO durante el año de estudio.

Conclusiones

La colestasis pre-TH desempeña un papel en la OP tras la intervención. El primer año post-TH es un período crítico. Tras el TH, la MO aumenta pese a factores favorecedores de OP como la edad y la corticoterapia. El eje IGF-I-IGFBP desempeña un papel en la evolución de la MO tras el TH.

Significación fisopatológica de las monocinas en la regulación de la osteoclastosis

Doctorando: José de la Mata.

Director: Dr. Melchor Álvarez de Mon Soto.

Universidad de Alcalá de Henares.

Introducción

Las monocinas interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y PTH-rP son potentes factores estimuladores de la resorción ósea que estimulan *in vitro* la osteoclastosis (OCL) y están implicados en múltiples trastornos asociados a pérdida local o sistémica de masa ósea, entre ellos, la hipercalcemia tumoral (HT).

Objetivos

a) Determinar si la exposición continuada a valores elevados de monocinas y PTH-rP modifica *in vivo* la OCL y su consiguiente repercusión en la inducción de HT; *b)* precisar en qué estadios de maduración osteoclástica actúan las mencionadas citocinas; *c)* determinar el efecto regulador de la IL-6 sobre la IL-1, TNF- α y PTH-rP en la HT, y *d)* identificar efectos sistémicos asociados con la exposición prolongada de valores elevados de IL-6.

Material y métodos

Un total de 1×10^7 células CHO (*Chinese hamster ovarian*) transfectadas con ADN complementario

de monocinas y PTH-rP se inocularon en los jamones de ratones machos BALB c *nude* (calvos). En los experimentos en los que se analizó la interacción entre 2 moléculas se inocularon tumores en ambos jamones. El Ca^{++} se determinó mediante flebotomía retroorbitaria a tiempos de 0, 7, 10, 12 días y en el momento del sacrificio (variable según el experimento). Tres estadios madurativos del osteoclasto se estudiaron al sacrificar a los ratones: el precursor osteoclástico multipotencial más temprano, la unidad formadora de colonias granulocito-macrófago; un precursor osteoclástico más maduro, las células multinucleadas TRAP (+) y osteoclastos maduros.

Resultados

	UFC-GM	Células TRAP (+)	Osteoclasto maduro	Hipercalcemia
IL-1	+++	+++	+++	+++
IL-6	+++	-	-	-
TNF- α	-	++	++	-
PTH-rP	-	++++	++++	++++
IL-6 + IL-1	+++	+++	+++	++++
IL-6 + TNF- α	+++	++++	++++	++
IL-6 + PTH-rP	+++	+++++	+++++	+++++

Además, la IL-6 produce, en este modelo, trombocitosis, caquexia y un notable efecto antitumoral.

Conclusiones

Las monocinas clásicamente implicadas en la patogenia de la HT poseen diferentes efectos activadores de la OCL, y aquellas que actúan en las fases tempranas de este proceso son las que facilitan el efecto hipercalcemiante de las que lo hacen en fases tardías.

Proteínas tau y hHesB. Nuevos autoantígenos en el síndrome de Sjögren

Doctorando: Iván A. Ferraz Amaro.

Directores: Dr. Pablo Martín Vasallo y Dr. Tomás González García.

Universidad de La Laguna. Las Palmas de Gran Canaria

Objetivos

Identificar nuevos autoantígenos en el síndrome de Sjögren, haciendo especial hincapié en sus manifestaciones neurológicas, y determinar la prevalencia de estos nuevos autoanticuerpos en enfermos y población sana.

Métodos

Muestreo en genoteca de expresión de cerebro humano en *λgt11* utilizando como sonda sueros de

enfermos con síndrome de Sjögren con y sin manifestaciones neurológicas; método SEREX (*serological identification of antigens by recombinant expression cloning*).

Resultados

Entre los clones de ADNc obtenidos había algunos ya conocidos como autoantígenos (La, NA-14, ARNr 28s, CENP-B y PDC E2) y otros que no se conocían como tales: proteínas tau, WAVE, una proteína fijadora de guanina y una proteína no conocida en humanos que recibió el nombre de proteína hHesB. Se procedió a la síntesis recombinante de las proteínas tau y hHesB. Tras esto, ambas proteínas fueron testadas mediante Western blot en 20 enfermos de síndrome de Sjögren. Las bandas obtenidas en dichos Western blot fueron analizadas mediante programa informático (Scion Image NIH), y se procedió al análisis estadístico de estos valores.

Conclusión

Hemos llevado a cabo muestreos seriados de una genoteca de expresión de cerebro humano utilizando como sonda sueros de pacientes afectados de síndrome de Sjögren, y hemos clonado los ADNc que codifican las siguientes proteínas que se comportan como autoantígenos: La, proteína PDC E2, ARNr 28s, proteína tau, proteína WAVE, proteína NA-14 y proteína hHesB. Hemos encontrado un carácter prevalente de la proteína tau y hHesB como autoantígenos tanto en la población control como en la formada por pacientes afectados de síndrome de Sjögren. Hemos encontrado un agrupamiento con una correlación estadísticamente significativa ($p < 0,002$) entre el valor de anticuerpos contra la proteína hHesB en los enfermos con síndrome de Sjögren con respecto al grupo de controles.

Impacto de las enfermedades reumáticas en la calidad de vida de los pacientes: medición y comparación entre artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, lupus eritematoso generalizado y osteoporosis

Doctorando: Rafael Ariza Ariza.

Director: Prof. Federico Navarro Sarabia.

Servicio de Reumatología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Departamento de Medicina. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla.

Introducción

Es importante medir la calidad de vida relacionada con la salud (CVRS) en los pacientes reumáticos. Es necesario disponer de instrumentos adecuados en nuestro medio.

Objetivos principales

Estudiar la validez y la fiabilidad de las versiones españolas del BASFI y OPTQoL para medir la función física en la espondilitis anquilosante (EA) y la CVRS en la osteoporosis (OP), respectivamente. Conocer la CVRS de los pacientes con EA, OP, lupus eritematoso generalizado (LEG) y artritis reumatoide (AR).

Metodología

Estudio transversal realizado en el Servicio de Reumatología del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla. Pacientes con EA (criterios de NY), OP (primaria), LEG (criterios ACR) y AR (criterios ACR). Variables de enfermedad. Instrumentos específicos de CVRS y subdominios. Instrumentos genéricos SF-36 (0 a 10, mejor a peor CVRS) y EuroQuol (perfil salud EQ-PS de 0 a 2, de mejor a peor CVRS y escala visual).

Resultados

Doscientos treinta y dos pacientes, 92 con EA (edad media, 40,7 años; mujeres/varones, 23/69), 45 con OP (66,3 años; mujeres/varones, 43/2), 40 con LEG (38,8 años; mujeres/varones, 35/5) y 55 con AR (45,8 años; mujeres/varones, 40/15). Validez y fiabilidad del BASFI: correlación con SF-36-función física con r de 0,75 ($p < 0,0001$); rho (reproducibilidad test-retest) de 0,91 ($p < 0,0001$); consistencia interna con alfa de Cronbach de 0,92. CVRS en EA: SF-36 escala física global (media [intervalo de confianza del 95%]): 4,9 (4,3-5,4); SF-36 escala mental global: 3,7 (3,2-4,2); EQ-PS: 0,6 (0,5-0,7). Validez y fiabilidad del OPTQoL: correlación con SF-36 global con r de 0,69 ($p < 0,0001$); OPTQoL distinguió entre pacientes con y sin fracturas vertebrales; rho (reproducibilidad test-retest) de 0,99 ($p < 0,0001$); consistencia interna con alfa de Cronbach $> 0,82$. CVRS en OP: SF-36 física global: 5,8 (5,1-6,5); SF-36 mental global: 4,7 (4-5,4); EQ-PS: 0,9 (0,8-1). CVRS en LEG: SF-36 física global: 3,7 (2,8-4,5); SF-36 mental global: 4,4 (3,6-5,1); EQ-PS: 0,5 (0,3-0,6). CVRS en AR: SF-36 física global: 5 (4,3-5,7); SF-36 mental global: 3,5 (2,8-4,1); EQ-PS: 0,7 (0,6-0,8).

Conclusiones

Las versiones españolas del BASFI y del OPTQoL son válidas y confiables para medir función física en EA y CVRS en OP, respectivamente. La CVRS de los pacientes con EA, OP y AR está deteriorada en mayor medida en el área física que en la mental. En pacientes con LEG el deterioro tiende a ser mayor en el área mental que en la física.

Antígenos HLA en pacientes con síndrome de Sjögren primario (SSP) y asociación con las manifestaciones clínicas

Doctorando: Cristina Fernández Carballido.

Director: Dr. José Andrés Román Ivorra

Sección de Reumatología. Hospital Universitario Dr. Peset. Valencia. Centro de Transfusiones de la Comunidad Valenciana.

Hipótesis

Aunque la relación del SSP con el antígeno HLA DR3 parece la más establecida, existe variabilidad genética, clínica e inmunológica de los pacientes con SSP de diferentes áreas y razas que hace suponer la existencia de diferencias inmunogenéticas.

Objetivos

Describir una muestra de pacientes con SSP; determinar la prevalencia de los antígenos HLA en ellos mismos y en una población control (donantes sanos) y calcular la asociación con el SSP; comparar los resultados con los de otras poblaciones y analizar la relación de los alelos y las manifestaciones clínicas.

Pacientes y métodos

Un total de 121 pacientes con SSP (≥ 4 criterios europeos modificados). En todos los pacientes se descartó la presencia de enfermedades causantes de SS secundario o de la aparición de hipertrofia o infiltración linfocitaria glandular, a excepción de la infección por VHC. Hubo 116 mujeres y 5 varones, con una edad media de 63 años; el tiempo de seguimiento fue de 3,5 años. Criterios EU: ojo seco 91,7%; boca seca 97,5%; Schirmer I < 5 ml: 83,5%; flujo salival no estimulado $< 1,5$ ml: 65,3%; biopsias glándulas salivares ≥ 1 focus: 96,7%; anti-Ro y/o anti-La: 28,9%. Tipificación HLA: microlinfocitotoxicidad.

Resultados

Los pacientes son clínica y serológicamente comparables a los de otras series, salvo por una menor prevalencia de anticuerpos anti-Ro y anti-La. Los anticuerpos se asocian con la presencia de leucopenia, hipergammaglobulinemia y aumento de IgG, y existe una tendencia a desarrollar fenómeno de Raynaud. Los antígenos más frecuentes en los pacientes con SSP fueron: B56.22, DR1 y DR4. El antígeno menos frecuente fue DR7. Existe una tendencia a desarrollar alteraciones tiroideas en los pacientes con HLA DR2 y fenómeno de Raynaud y anticuerpos anti-La en los pacientes con HLA DR3.

Conclusiones

La existencia de distintos antígenos asociados con el SSP en distintas poblaciones y la diferente prevalencia de los autoanticuerpos apoya la hipótesis de la existencia de diferencias inmunogenéticas en el SSP.

El papel del parvovirus B19, de los virus herpes y de la metaloproteinasa-2 y 9 en la etiopatogenia de la arteritis de células gigantes

Doctorando: Alicia Rodríguez Pla.

Directores: Dr. Joseph Angel Bosch Gil y Dr. José Roselló Urgell.

Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

Fundamento

La etiología de la arteritis de células gigantes (ACG) es desconocida y sus aspectos etiopatogénicos están poco estudiados.

Objetivos

a) Estudiar la presencia de parvovirus B19 y de los virus herpes en las arterias temporales positivas y negativas para la ACG; b) estudiar la asociación entre la expresión de metaloproteinasa-2 (MMP-2) y 9 (MMP-9) y el resultado de la biopsia de la arteria temporal (BAT), qué células las expresan y su localización; c) analizar si la presencia de estas MMP o los virus se relaciona con las alteraciones histológicas y con las variables clinicoepidemiológicas de los pacientes, y d) conocer cuáles son los factores predictores del resultado de la BAT.

Material y métodos

Se incluyeron todas las BAT valorables realizadas de forma consecutiva en el Hospital Universitari Vall d'Hebron por sospecha clínica de ACG entre enero de 1997 y marzo de 2002. Como criterios anatomopatológicos se utilizaron los del ACR. La presencia de ADN viral se determinó mediante reacción en cadena de la polimerasa. Se realizaron nuevas tinciones de hematoxilina-eosina, fibras elásticas y tricrómicro de Masson. Los macrófagos CD68, la MMP-2 y la MMP-9 se detectaron mediante inmunohistoquímica. De las historias clínicas se obtuvieron datos clínicos y epidemiológicos. Para el ajuste multivariable se utilizó la regresión logística múltiple.

Resultados

En el período en estudio se encontraron 147 BAT válidas, 50 (35%) positivas para ACG y 97 (66%) negativas. Se recuperó la historia clínica de 125 pacientes, 46 (36,8%) con BAT (+) y 79 (63,2%) BAT (-). No se encontró presencia de ADN de los virus estudiados en ninguna de las BAT. La MMP-9 se expresaba con más frecuencia en BAT positivas que negativas para ACG (*odds ratio* [OR]: 2,93; $p = 0,005$). Para la MMP-2 la diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,08$). Ambas MMP se expresaban en macrófagos de la íntima y de la media, cercanos a la lámina elástica interna, en células gigantes y en células con apariencia de músculo liso de la media y de la íntima. La expresión de MMP-2 se relacionó de forma inversa con la afectación exclusiva de la adventicia ($p = 0,047$) y de forma positiva con la fiebre ($p = 0,025$). La MMP-9 se relacionó de forma positiva con: hiperplasia intimal (0,037), degeneración lámina elástica (0,0001), disminución de la luz (0,008), hipercolesterolemia (0,032) e hiperestesia craneal (0,009). Ajustando por variables que podrían influir en el resultado de la biopsia (edad, sexo, tiempo de evolución de los síntomas hasta la BAT, tratamiento previo con glucocorticoides y año de realización de la biopsia), se mantuvieron los resultados entre la expresión de MMP-2 y MMP-9. El engrosamiento de la arteria temporal, la disminución de su pulso y la pérdida de peso se asociaron de forma independiente con el resultado de la biopsia, ajustando por edad, sexo, días de evolución, tratamiento previo, año de realización, cefalea, hiperestesia craneal, claudicación mandibular, alteraciones visuales y velocidad de sedimentación globular (VSG).

Conclusiones

Ninguno de los virus estudiados parece estar implicado en la etiopatogenia de la ACG. La MMP-9, al contrario de la MMP-2, parece tener un papel en dicha etiopatogenia. La MMP-9 se asocia con la hipercolesterolemia y la MMP-2 con la fiebre. El engrosamiento, la disminución de la luz de la arteria temporal y la pérdida de peso se han encontrado asociadas a una elevada probabilidad de resultado positivo de la biopsia en los enfermos estudiados.