



## Acta de la sesión de la ANMM del 7 de septiembre de 2016

### Presentación del trabajo de ingreso

#### **La actividad funcional de los transportadores ABCB1 (P-gp) y ABCG2 (BCRP1) en pacientes con artritis reumatoide está determinada por la actividad de la enfermedad-Dra. Virginia Pascual Ramos**

El trabajo de ingreso de la Dra. Pascual Ramos tuvo como objetivo determinar si había una correlación entre la persistencia de actividad de la enfermedad de Artritis Reumatoide (AR) en pacientes que recibieron un tratamiento para erradicación con niveles altos de actividad de los transportadores ABCB1 (P-gp) y ABCG2 (BCRP1). Esto explicaría que estos pacientes continuaran con la enfermedad, ya que tendrían una resistencia a las drogas que se usan para el tratamiento pues los transportadores bajarían su concentración intracelular al expulsarlos hacia el espacio extracelular. Los medicamentos que podrían ser expulsados por los transportadores estudiados son el Metotrexato (MTX) y la Leflunomida.

El contexto clínico del estudio es la cohorte iniciada en el 2004 en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), que incluye casos de AR con menos de 1 año de evolución.

La Dra. Pascual relató que su estudio incluyó 17 casos que tenían actividad moderada de AR a pesar del tratamiento y 17 controles que eran pacientes sin actividad de la enfermedad que fueron tratados con el mismo tratamiento. Relató que la actividad de la enfermedad se mide con el índice DAS28 (Disease Activity Score) de 28 articulaciones. Este índice define el estado general de la enfermedad de 0 a 10 (que es la situación más grave). El punto de corte del DAS28 para definir la remisión de la AR es de 2.6.

Para medir la actividad de los transportadores ABCB1 (P-gp) y ABCG2 (BCRP1) se usaron 5 ml de sangre periférica de cada uno de los pacientes y se aislaron células mononucleares a las que se les midió la actividad para expulsar daunorrubicina (DN) y taxol (TX). Para establecer la actividad normal se usó la sangre periférica de 25 sujetos sanos.

La edad promedio de los pacientes que se incluyeron en el estudio es de 41.6 años de edad, en su mayoría mujeres con 3.6 años de seguimiento. A todos los casos y controles se les midió el DAS28, la proteína C reactiva, y autoanticuerpos.

Se encontró una correlación positiva entre la actividad de los transportadores P-gp y BCRP1 y los pacientes activos de la actividad, así pues el 11.4% de los linfocitos de los



pacientes con AR activa extruden los fármacos, mientras que sólo el 1.45% de los linfocitos de los pacientes controlados lo hacen. Adicionalmente se buscó si había alguna otra característica de los casos y controles que correlacionaba con la actividad de transportadores, pero no hubo ninguna otra correlación positiva. .

**Comentarista:** Dr. Francisco Guillermo Medina Rodríguez

Al iniciar su intervención el Dr. Medina agradeció la invitación para unirse a la celebración del ingreso de la Dra. Pascual Ramos.

Relató brevemente la evolución de la AR, que originalmente se trataba con aspirinas, pero en los años 90 se detectó que hay casos graves que requieren otro tipo de tratamiento. Dijo que en casos graves la AR tiene una mortalidad tan grave como el linfoma de Hodgkin y la enfermedad cardíaca. Resaltó que la AR es una urgencia médica y debe ser tratada como tal.

Adicionalmente comentó sobre las características moleculares de los transportadores P-gp y BCRP1 que se conocen desde hace algunos años, y que son el objeto de estudio del trabajo de la Dra. Pascual.

Comentó que sería muy importante poder discernir cuáles son las artritis “malignas” que no responden adecuadamente al tratamiento, y distinguirlas de las que van a responder mejor. Comentó que el tratamiento de la AR que es resistente a los fármacos tradicionales, está entre 800 y 1000 dólares y que hay que saber a quién darle este tratamiento que sea quien realmente lo requiere.

Para terminar su intervención, el Dr. Medina felicitó a la Dra. Pascual.

Por su parte el Dr. Enrique Graue felicitó a la Dra. Pascual y le dio la bienvenida a la ANMM.

## **Simposio**

**Control en la inflamación en artritis reumatoide: lo obvio, lo nuevo, lo oculto.**

**Coordinador:** Dr. Luis Guillermo Llorente Peters

**Introducción-**Dr. Luis Guillermo Llorente Peters

El Dr. Llorente comentó sobre lo que se trataría en cada una de las presentaciones del simposio sobre AR y dijo que hay muy pocos pacientes a los que no se puede inducir remisión; que hoy hay un amplio arsenal terapéutico para esta enfermedad que



incluyen tratamientos biológicos. Relató que la Dra. Pascual presentaría lo obvio, que es que hay que tener apego al tratamiento para lograr la remisión; el Dr. Jakez hablaría de un tema nuevo, que se ha trabajado lo que va del siglo en el INCMNSZ que se refiere a la resistencia a fármacos en el tratamiento de la AR. Por su parte el Dr. Tovar hablaría de un tema que dejó de ser lo oculto, que es lo que se refiere a la microbiota que se sabe que tiene una influencia sobre la salud, pues se encuentran cambios en su composición llamada disbiosis en muchas enfermedades autoinmunes como la reumática.

### **Por qué el apego a la terapéutica importa-Dra. Virginia Pascual Ramos**

La Dra. Pascual comentó que en su presentación se referiría a la trascendencia del desapego al tratamiento en la evolución de los pacientes con AR. Dijo que dentro de su intervención se referiría a las mediciones y constructos para evaluar el apego al tratamiento, el impacto del desapego, y las causas o motivaciones que intervienen en que un paciente no siga el tratamiento; finalmente presentaría algunas conclusiones.

Estos aspectos que se presentarían se sustentan en evidencia que se ha generado en México dentro del INCMNSZ. Resaltó que se referiría a los fármacos que se aplican para llevar a la remisión a un paciente si se apega al tratamiento, y que se ha reportado que en este tipo de tratamiento entre el 20% y el 70% de los pacientes se desapegan.

Presentó los resultados de una revisión sistemática de apego al tratamiento de AR publicada en 2013 en diferentes países, autores, y esquemas terapéuticos. En este contexto dijo que en México se presentan una de las cifras más bajas de apego al tratamiento, que es de 50%.

En cuanto a los instrumentos de medición dijo que existen excelentes métodos, como los que miden la concentración de los medicamentos en sangre, pero no se pueden usar pues son invasivos. Así pues, el método más usado y aceptado es la aplicación de cuestionarios a los pacientes. Con estos instrumentos se mide el grado de concordancia con el tratamiento prescrito. Comentó que el que un paciente se apegue al tratamiento es una negociación.

Por otra parte definió algunos términos como el de la adherencia al tratamiento que se refiere al grado de conformidad con la dosis, la frecuencia y el momento en el que se toma el tratamiento. En cuanto a la persistencia, dijo que se refiere a seguir con el tratamiento durante todo el tiempo que se le indicó a un paciente.

Comentó que la clínica de AR del INCMNSZ empezó en 2004, y en ella los pacientes reciben un tratamiento intenso y agresivo para alcanzar la remisión; y que son los propios pacientes los que compran los medicamentos. En esta clínica se cuenta con 180 pacientes, y se han perdido 19 al tratamiento.



Dentro de los resultados obtenidos está que durante los 2 primeros años de seguimiento el 50% de los pacientes dejaron el tratamiento por 40 días o más. Se encontró que el Das28 mejora más en los pacientes persistentes al tratamiento, y que el 80% de estos pacientes alcanzan y mantienen la remisión a los 6 meses y que la remisión se mantiene por un periodo más largo. Adicionalmente, la Dra. Pascual comentó que si se miden los desenlaces deseables mantenidos por 6 meses, se encontró que la persistencia al tratamiento favorece todos los buenos desenlaces, menos el cansancio.

La Dra. Pascual cuestionó qué dice el paciente con respecto a la adherencia al tratamiento, qué le ocurre que le hace desapegarse de lo que le recomienda el médico. Así pues, se determinó qué pasa cuando los pacientes están bien, dando seguimiento a 93 pacientes que ya no mostraban actividad de la enfermedad a los 25 meses de iniciado el tratamiento y se encontró que en los siguientes 6 meses, casi la mitad abandonan el tratamiento. En estos casos se determinó también que los pacientes que se adhieren al tratamiento se mantuvieron más tiempo en remisión, tuvieron menos actividad de la enfermedad y un menor deterioro.

Por otra partes, si se analiza cuáles son las motivaciones qué hace que los pacientes dejen el tratamiento, es aparente que se basa en creencias, no en conocimientos sustentados, así como en la naturaleza de los medicamentos en sí, en situaciones demográficas y económicas.

Con el fin de tener esta información en la población mexicana, se llevó a cabo la aplicación de un cuestionario que explora las causas y motivaciones detectadas en otras poblaciones. El resultado de la realización de estas encuestas es que más años de educación formal correlaciona con una menor adherencia al tratamiento. Adicionalmente se detectó que algunos pacientes dejan el tratamiento porque el medicamento es caro o no se encontró en las farmacias. Comentó que era más frecuente que se abandonara el tratamiento que consistía en algunas combinaciones de medicamentos.

Resaltó que 19 pacientes de la cohorte de AR del INCMNSZ tienen un año perdido al seguimiento del tratamiento, y cuestionó cómo se puede predecir cuáles pacientes abandonarán el tratamiento. En este sentido se ha encontrado que las causas principales del abandono son, la falta de control de la enfermedad, y la prescripción de un tratamiento más intenso que se debe a que presentan más actividad de la AR.

Sin embargo dentro de las conclusiones resalto que el desapego es frecuente y progresivo, y es independiente del grado de control de la enfermedad. Afecta de manera importante en todos los desenlaces que se pueden medir, tanto en la percepción de los pacientes, del médico, como en los resultados de los análisis clínicos. Asimismo resaltó



que para que un paciente continúe con el tratamiento es importante el costo y la disponibilidad de los medicamentos; esto constituye una llamada de atención para las autoridades que deberían considerar el proporcionar el tratamiento a los pacientes. Otro factor importante para el apego al tratamiento de los pacientes es la depresión. Para terminar dijo que el desapego no es el único factor que impacta a que no se logre la remisión de los pacientes de AR, ya que hay una fracción de los pacientes que se adhieren al tratamiento, pero siguen teniendo actividad de la enfermedad.

### **Caracterización fenotípica de las células mononucleares con alta actividad de los transportadores ABCB1 y ABCG2 de paciente con Artritis Reumatoide (AR) temprana-Dr. Juan Jakez Ocampo**

El Dr. Jakez comentó al inicio de su participación que el gene que codifica para el transportador ABCB1 se clonó en 1976 y que la expresión de este transportador es constitutiva en varios tejidos, incluyendo el hígado, el riñón, y los linfocitos. Este transportador expulsa los fármacos TX y DN utilizados en quimioterapia. Relató además, que en el departamento de Inmunología y Reumatología del INCMNSZ, en los primeros años de este siglo se publicó la actividad incrementada de transportador ABCB1 en pacientes resistentes al tratamiento.

Presentó que el 98% de los pacientes de la cohorte con AR del INCMNSZ que están controlados (DAS28 de 2.6 o menor) tienen una actividad del transportador ABCB1 (medida con DN) muy semejante a los controles sanos. Sin embargo si se mide la actividad de extrusión de la DN de un grupo de pacientes de esta cohorte que reciben un tratamiento adecuado pero no están controlados, el porcentaje que saca la DN es del 25%.

Ante estos resultados el Dr. Jakez presentó que se planteó la pregunta de si todos los linfocitos de un paciente con alta actividad de del transportador ABCB1 tienen la actividad incrementada o sólo una subpoblación de estas células linfoides. Por eso se hizo la caracterización fenotípica de los linfocitos que se presentó en el simposio.

La caracterización de la actividad del transportador ABCB1 se hizo separando las subpoblaciones de linfocitos T, T reguladoras y linfocitos B de la sangre periférica, mediante citometría de flujo, después de teñirlos con marcadores de superficie específicos de cada subpoblación de 10 pacientes a los que ya se había detectado una actividad elevada de este transportador mediante la extrusión de DN. Este procedimiento fue aprobado por el Comité de Investigación y el Comité de Ética del INCMNSZ y la firma de una carta de consentimiento informado por los pacientes.

El Dr. Jakez mostró los resultados representativos de la caracterización de las subpoblaciones de linfocitos T y B de 3 pacientes.



Los resultados encontrados muestran que la actividad del transportador ABCB1 sólo está elevada en algunas subpoblaciones de los linfocitos, específicamente en los linfocitos T CD4+ de memoria, y en menor proporción dentro de los linfocitos B en los plasmoblastos.

Como perspectivas de este proyecto de investigación el Dr. Jakez comentó que se pretende aislar poblaciones celulares y medir la actividad del transportador ABCB1, tras la estimulación in vitro con citosinas, para posteriormente medir su resistencia a fármacos. También resaltó la posibilidad de explorar el uso del transportador ABCB1 como blanco terapéutico.

### **Bacterias y articulaciones: el microbioma en la artritis reumatoide-Dr. Armando Tovar Palacio**

El Dr. Tovar dijo al inicio de su intervención que la idea era presentar la evidencia que indica que existe una interacción entre la microbiota y las enfermedades autoinmunes. Posteriormente hizo un breve recuento de cómo vemos y estudiamos a la microbiota. Relató que sólo el 30% de las bacterias de la microbiota son cultivables, por lo que para su estudio se emplean técnicas de secuenciación masiva del RNA ribosomal 16S (16S rRNA); alternativamente se puede analizar todo el microbioma y no sólo el 16S rRNA mediante metagenómica o metatranscriptómica (que determina todos los genes se están expresando en un momento dado).

Con estas tecnologías se sabe que a nivel de filas las principales son: Firmicutes (que incluye el 75% de las bacterias presentes); Bacteroidetes; Actinobacterias; Proteobacterias; Verrucomicrobia

El Dr. Tovar comentó que la microbiota es diferente en distintas partes del organismo, como puede ser el intestino, la piel, el tracto urogenital, y la cavidad oral. En estas partes del cuerpo, cambia no sólo el tipo de microorganismos presentes, sino también las proporciones que tienen. Incluso dentro del tracto intestinal, aunque los microorganismos están distribuidos a lo largo de todo el tracto digestivo, su composición varía y en el colon hay muchas más bacterias y muchas de ellas son anaerobias.

Adicionalmente dio que la microbiota es particular para cada individuo y se puede considerar como una huella personal, y que la composición de la microbiota de una familia es similar.

En cuanto a los factores que afectan a la microbiota, señaló que se encuentran la edad de la persona, el canal de nacimiento y la alimentación, así como la higiene personal. En cuanto al grado de higiene comentó que se desarrolló la hipótesis de que la exposición temprana a microorganismos protege contra las enfermedades autoinmunes.



En lo relativo a la relación de la microbiota con las enfermedades autoinmunes, el Dr. Tovar presentó un artículo publicado en la revista Cell en el 2016 que presenta el análisis de la composición de la microbiota en niños nacidos en Espoo Finlandia, Tartu Estonia, y Petrozavodsk Rusia. Se escogieron estas localidades ya que en Finlandia, y Estonia tienen una incidencia 5 veces mayor que en Rusia de Diabetes mellitus tipo 1. Se reportó que en las localidades de Finlandia y Estonia hay una mayor proporción de Bacteroidetes en la microbiota, mientras que en Rusia, la especie que predomina es *Bifidobacterium bifidum*. Otros resultados reportados en este artículo es que aunque en las 3 localidades hay lactancia materna, la diferencia está en cómo se metabolizan los oligosacáridos de la leche materna en Estonia y Finlandia por los bacteroidetes que se encuentran en la microbiota.

Otra diferencia significativa en la microbiota de los niños de estas localidades es el tipo de bacterias que producen lipopolisacárido (LPS). En la microbiota de los niños de la localidad de Rusia predomina el LPS de *Escherichia coli* (Rusia), mientras que en el caso de los casos estudiados en Estonia y Finlandia el LPS lo produce *Bacteroides dorei*. Al analizar el efecto de estos dos tipos de LPS en células periféricas vieron que LPS de *B dorei* no da una respuesta inflamatoria, mientras que las de *E. coli*.

Con base en estos resultados se concluyó que los primeros días en la vida el metabolismo de la leche por parte de la microbiota, promueve la autoinmunidad o la inflamación.

En cuanto al tema del simposio, el Dr. Tovar comentó que en estudios con pacientes con AR ya establecida se ha visto que la microbiota de la cavidad oral es diferente a la microbiota presente en la boca de las personas sanas. Al estudiar los genes que se expresan diferencialmente en los pacientes, se constató que hay una disminución de *Haemophilus*, lo que correlaciona con la formación de autoanticuerpos. Además al determinar la diversidad de la microbiota se ve que es mayor en las personas sanas y está disminuida en los pacientes con AR. El tratamiento de la AR revierte la disminución de la diversidad de la microbiota.

Relató también los resultados obtenidos con un modelo de ratón que presenta una enfermedad similar a la AR, en el que se ha mostrado que las bacterias filamentosas segmentadas estimulan a las células de placas de Peyer, y que este tipo de células incrementa la formación de autoanticuerpos. Al momento se desconoce el mecanismo mediante el que las células de las placas de Peyer estimulan la formación de autoanticuerpos, y se están realizando investigaciones al respecto.

El Dr. Tovar presentó como conclusión que existe evidencia de que a través de la microbiota se presentan diversos efectos en la salud que desencadenan algunas



enfermedades cuando hay disbiosis, y que entre estas patologías se encuentran las enfermedades autoinmunes.

### **Discusión y conclusiones**

- El Dr. Miguel Cruz felicitó a los participantes en el simposio que mostraron un enfoque novedoso. Preguntó si en el líquido sinovial existían bacterias o algo que genere la inflamación en AR.

El Dr. Tovar le contestó que el líquido sinovial hasta donde se sabe es estéril. Que en el caso de espondilitis anquilosante, en los años 90s se encontró Chlamydia, o Shigella en la articulación mediante PCR, pero no hay ninguna evidencia de presencia de microorganismos en las articulaciones en el caso de AR.

Por su parte el Dr. Medina dijo que la artritis reactiva se ha considerado estéril por 50 años.

- Hubo una pregunta en el sentido de cómo afecta la dieta en el desencadenamiento o control de la AR.

La Dra. Pascual le contestó que el impacto de la dieta es mínima, pero que se ha reportado que la mejor dieta para los pacientes con esta enfermedad, es la dieta mediterránea.

- Se le pidió a los ponentes que presentaran cifras de AR en México.

Comentaron que no hay estadística de todo el país, pero con base en lo que se observa en instituciones como el IMSS y el INCMNSZ, las cifras de prevalencia de AR son similares a las de otros países. Lo que sí distingue a los países latinoamericanos es que la AR se presenta 10 años antes que en otras regiones, el desenlace no es peor. Además comentaron que los pacientes con AR y síndrome metabólico tienen un peor desenlace.

- Hubo otra pregunta sobre si la frecuencia de abandono del tratamiento correlaciona con el nivel socio económico, y qué pasa en los países desarrollados, con respecto al gasto de los gobiernos en AR.

La Dra. Pascual comentó que es muy posible que sí haya una correlación entre el nivel socio económico y el abandono del tratamiento, pero no se ha podido definir el impacto en los estudios realizados en el INCMNSZ, ya que los pacientes de la cohorte tienen todos bajo nivel socio económico. Sin embargo se sabe en otros países que sí afecta.

Además se comentó que hay mejores resultados en otros con mayor cobertura y en los que los medicamentos son proporcionados por las instituciones de salud, pues en estos países hay más apego al tratamiento.



- Un médico asistente comentó que atendía a dos pacientes con un severo ataque de deformidad y preguntó si los ponentes tenían experiencia en AR causada por el virus Epstein Barr.  
Le contestaron que al ser el INCMNSZ un hospital de tercer nivel, es difícil que vean ese tipo de pacientes.
- Preguntaron si la microbiota que se relaciona con la obesidad es similar a la que se relaciona con AR.  
El Dr. Tovar contestó que las especies bacterianas que se asocian con cada una de estas enfermedades son diferentes. Además comentó que han aparecido nuevos conceptos en el área que han llevado a postular que a través de la dieta se pudiera tener un efecto benéfico en la microbiota. En este sentido se plantea el uso de microorganismos específicos como probióticos para enfermedades autoinmunes.
- Otra pregunta se refirió a si hay una relación entre los fármacos que se usan para tratar la AR con la microbiota.  
La respuesta fue que en principio la microbiota es capaz de metabolizar los fármacos, por lo que es posible que las bacterias modifiquen los fármacos, pero es todavía especulación, pues no hay datos en este sentido.  
También se comentó que hay un modelo murino de AR, y que en estos ratones la AR se hace más violenta si están libres de gérmenes, por lo que es posible que la microbiota atenúe la enfermedad.

**\*El texto de esta ponencia se encuentra disponible en la página de la ANM**