

**ADIPOCINAS Y MARCADORES CLÍNICOS, INMUNOLÓGICOS Y PERIODONTALES
COMO INDICADORES DE RIESGO EN FAMILIARES CONSANGUINEOS DE
PACIENTES CON AR**

Sara Abdala Alkhatib Hernández

**UNIVERSIDAD EL BOSQUE
PROGRAMA DE PERIODONCIA Y MEDICINA ORAL- FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
BOGOTA DC.- JULIO 2021**

HOJA DE IDENTIFICACIÓN

Universidad	El Bosque
Facultad	Odontología
Programa	Periodoncia y Medicina Oral
Título:	Adipocinas y marcadores clínicos, inmunológicos y periodontales como indicadores de riesgo en familiares de consanguinidad de pacientes con ar
Grupo de Investigación:	Grupo de inmunología celular y molecular universidad el bosque (InMuBo)
Línea de investigación:	Medicina periodontal
Institución(es) participante(s):	Universidad El Bosque Hospital Militar Central. Bogotá D.C
Tipo de investigación:	Posgrado /Grupo
Residente:	Sara Abdala Alkhatib Hernández
Director:	María Consuelo Romero Sánchez
Asesor metodológico:	Lorena Chila Moreno
Asesor y análisis estadístico:	Tami Goretty Trujillo

DIRECTIVOS UNIVERSIDAD EL BOSQUE

OTTO BAUTISTA GAMBOA	Presidente del Claustro
JUAN CARLOS LÓPEZ TRUJILLO	Presidente Consejo Directivo
MARIA CLARA RANGEL GALVIS	Rectora
RITA CECILIA PLATA DE SILVA	Vicerrectora Académico
FRANCISCO JOSÉ FALLA CARRASCO	Vicerrector Administrativo
MIGUEL OTERO CADENA	Vicerrectoría de Investigaciones.
CRISTINA MATIZ MEJÍA	Secretaria General
JUAN CARLOS SANCHEZ PARIS	División Postgrados
MARIA ROSA BUENAHORA TOVAR	Decana Facultad de Odontología
MARTHA LILILIANA GOMEZ RANGEL	Secretaria Académica
DIANA MARIA ESCOBAR JIMENEZ	Director Área Bioclínica
ALEJANDRO PERDOMO RUBIO	Director Área Comunitaria
JUAN GUILLERMO AVILA ALCALÁ	Coordinador Área Psicosocial
INGRID ISABEL MORA DIAZ	Coordinador de Investigaciones Facultad de Odontología
IVAN ARMANDO SANTACRUZ CHAVES	Coordinador Postgrados Facultad de Odontología
MIGUEL FERNANDO VARGAS DEL CAMPO	Director Programa de Periodoncia y Medicina oral
MARIA ALEJANDRA SABOGAL BASSIL	Coordinadora Programa Periodoncia y Medicina Oral

“La Universidad El Bosque, no se hace responsable de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

GUÍA DE CONTENIDO

Resumen
Abstract

	Pag.
1. Introducción	1
2. Marco teórico	3
3. Planteamiento del problema	14
4. Justificación	15
5. Objetivos	16
5.1. <i>Objetivo general</i>	16
5.2. <i>Objetivos específicos</i>	16
5.3. <i>Hipótesis</i>	16
5.4. <i>Tipo de estudio</i>	17
5.5. <i>Población y muestra</i>	17
6. Materiales y métodos	18
6.1. <i>Criterios de inclusión para individuos familiares en primer grado de pacientes con AR</i>	18
6.2. <i>Criterios de exclusión para individuos familiares de pacientes con artritis reumatoide y controles sanos</i>	18
6.3. <i>Criterios de inclusión grupo control</i>	18
6.4. <i>Lugar de la investigación</i>	18
6.5. <i>Marcadores de laboratorio</i>	18
6.6. <i>Evaluación periodontal</i>	19
6.7. <i>Métodos de laboratorio</i>	20
6.7.1. <i>Cuantificación de anticuerpos anti-citrulinado</i>	20
6.7.2. <i>Medición de PCR ultrasensible: (Immulinite 1000, Siemens®, REF 10286287 High Sensitive CRP).....</i>	20
6.7.3. <i>Medición de factor reumatoide IgM (Spinreact REF 110705)</i>	20
6.7.4. <i>Medición de la velocidad globular</i>	21
6.7.5. <i>Inmuno-ensayo indirecto en fase sólida (ELISA) para la determinación de anticuerpos Igg1 e Igg2 contra Porphyromonas gingivalis</i>	21
6.7.6. <i>Medición de adipocinas</i>	22
6.7.6.1. <i>Cuantificación LEPTINA (REF. KAP2281, Kit DIAsource Leptin-EASIA) y VASPINA (REF. MBS267502, Kit MyBioSource).....</i>	22
6.7.6.2. <i>Cuantificación DE ADIPONECTINA, RESISTINA, ADIPSINA (Milliplex® MAP, HADK1MAG61K03,).....</i>	23
7. Resultados	24
7.1. <i>Demográficos de familiares en primer grado de pacientes con ar y controles</i>	24
7.2. <i>Características clínicas y serológicas de individuos familiares en primer grado de pacientes con AR</i>	26
7.3. <i>Niveles de adipocinas en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR y controles.....</i>	29
7.4. <i>Descripción de variables periodontales en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR y controles</i>	33
7.5. <i>Análisis presencia de adipocinas en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR.....</i>	35
8. Discusión	37
9. Referencias bibliográficas.....	48

LISTADO DE TABLAS

		Págs.
Tabla 1	Variables sociodemográficas, comorbilidades, antecedentes de tabaquismo y valores de IMC de la población estudiada PREAR y CTRL n=248. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	25
Tabla 2	Variables clínicas individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide, artritis reumatoide temprana. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	27
Tabla 3	Marcadores serológicos de inflamación del grupo de individuos familiares en primer grado de pacientes con AR. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	28
Tabla 4	Estratificación de adipocinas de acuerdo con el percentil 33 en individuos sanos. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	29
Tabla 5	Niveles séricos de Adiponectina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	30
Tabla 6	Niveles séricos de Resistina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	30
Tabla 7	Niveles séricos de Adipsina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	31
Tabla 8	Niveles séricos de Vaspina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	31
Tabla 9	Niveles séricos de Leptina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	32
Tabla 10	Niveles séricos de IL-6 en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	32
Tabla 11	Marcadores periodontales del grupo de individuos familiares en primer grado de pacientes con AR y CTRL. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	33
Tabla 12	Asociación de variables periodontales y reumatológicas con Leptina en el grupo de individuos familiares en primer grado de pacientes con AR (PREAR). Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	34
Tabla 13	Variables Periodontales en PREAR comparado con Controles. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	35
Tabla 14	Regresión logística condicional adipocinas frente a la condición de ser familiar de pacientes con AR. Diseñada por: Lorena Chila. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty	36

RESUMEN

ADIPOQUINAS Y MARCADORES CLÍNICOS E INMUNOLÓGICOS PERIODONTALES, COMO INDICADORES DE RIESGO EN FAMILIARES DE PRIMER GRADO DE PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE

Antecedentes: La genética tiene una gran influencia en el desarrollo de la artritis reumatoide (AR). Se evidencia en el aumento de la prevalencia de AR en las familias, siendo los familiares en primer grado de consanguinidad los de mayor riesgo (familiaresAR). La presencia de anticuerpos de factor reumatoide y péptido citrulinado cíclico (CCP) contribuye a los mecanismos de autoinmunidad, así como a factores ambientales como el tabaquismo y la obesidad. La detección de autoanticuerpos específicos de AR puede definir a los individuos con autoinmunidad sistémica asociada a AR, como individuos con riesgo de desarrollar AR. *Porphyromonas gingivalis* ha despertado interés recientemente desde los vínculos epidemiológicos entre la AR y la periodontitis y la descripción de una nueva peptidilarginina deiminasa (PAD) bacteriana, lo que sugiere un posible papel etiológico de esta bacteria en la AR a través de la generación de antígenos citrulinados. **Objetivo:** Establecer asociación entre niveles de adipocinas y marcadores clínicos, inmunológicos y periodontales como indicadores de riesgo en familiares de primer grado de pacientes con AR. **Materiales y métodos:** Es un estudio transversal con 248 individuos, 124 son familiaresAR emparejados con individuos sistemáticamente sanos, ajustados a la edad y el sexo. Se evaluó Tasa de sedimentación de eritrocitos (VSG), Proteína C reactiva (PCR), Anticuerpos de péptido cíclico citrulinado (anti-CCP), niveles de leptina, adiponectina, resistina vaspina, adiposina. Se evaluaron índices clínicos como índice gingival, índice de placa, profundidad de la bolsa, nivel de inserción, sangrado al sondaje. **Resultados:** Los marcadores serológicos encontramos diferencias en el anti-CCP encontrando que los familiaresAR presentan elevado el anti-CCP 19.4% ($p=0.0037$). Los familiaresAR tienen elevados los niveles de PCR con niveles superiores a 3, y a 9mg/L así como el FR>20. Los valores de resistina se encuentran en niveles moderados/altos en mayor frecuencia en CTRL 75.0% vs 57.3% en familiaresAR ($p=0.0032$), la adiposina se encuentra con mayor frecuencia en niveles moderados/altos en CTRL 79.0% ($p=0.0001$). La leptina se encuentra en mayor frecuencia en niveles moderados/altos en el grupo de familiaresAR 50.8% vs 35.5% en CTRL. Con las variables periodontales en familiaresAR se observó que la frecuencia de EP fue similar (60.5% vs 55,6%, respectivamente). **Palabras clave:** Artritis reumatoide, porphyromonas gingivalis, adipocinas, periodontitis, consanguinidad, genética

ABSTRACT

ADIPOKINES AND PERIODONTAL CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL MARKERS, AS RISK INDICATORS IN FIRST DEGREE RELATIVES OF PATIENTS WITH RA

Background: Genetics have a great influence on the development of rheumatoid arthritis (RA). It is evidenced in the increase in the prevalence of RA in families, with relatives in the first degree of consanguinity being those at the highest risk (AR relatives). The presence of antibodies to rheumatoid factor and cyclic citrullinated peptide (CCP) contributes to the mechanisms of autoimmunity, as well as to environmental factors such as smoking and obesity. Detection of RA-specific autoantibodies can define individuals with RA-associated systemic autoimmunity as individuals at risk of developing RA. *Porphyromonas gingivalis* has recently aroused interest from the epidemiological links between RA and periodontitis and the description of a new bacterial peptidylarginine deiminase (PAD), which suggests a possible etiological role of this bacterium in RA through the generation of citrullinated antigens. **Objective:** To establish the association between adipokine levels and clinical, immunological and periodontal markers as risk indicators in first degree relatives of patients with RA. **Materials and Methods:** It is a cross-sectional study with 248 individuals, 124 are relatives AR, matched with systematically healthy individuals, adjusted for age and sex. Erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP), citrullinated cyclic peptide antibodies (anti-CCP), levels of leptin, adiponectin, vaspine resistin, adiponectin were evaluated. Clinical indices such as gingival index, plaque index, pocket depth, insertion level, bleeding on probing were evaluated. **Results:** The serological markers showed differences in the anti-CCP finding that the relatives of the AR present high anti-CCP 19.4% ($p = 0.0037$). Relatives of AR have elevated CRP levels with levels higher than 3 and 9mg / L as well as RF > 20. Resistin values are found at moderate / high levels more frequently in CTRL 75.0% vs 57.3% in relatives AR ($p = 0.0032$), adiponectin is more frequently found at moderate / high levels in CTRL 79.0% ($p = 0.0001$). Leptin is found more frequently at moderate / high levels in the group of relatives, AR 50.8% vs 35.5% in CTRL. With the periodontal variables in relatives AR, it was observed that the frequency of PE was similar (60.5% vs 55.6%, respectively). **Keywords:** Rheumatoid arthritis, *porphyromonas gingivalis*, adipokines, periodontitis, consanguinity, genetics.

1. Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria autoinmune, caracterizada por una poliartritis simétrica que generalmente afecta las manos y los pies como también pueden verse afectadas otras articulaciones, causando sensibilidad y destrucción de las articulaciones sinoviales, lo que provoca una discapacidad grave y mortalidad prematura. La artritis reumatoide todavía se asocia con una morbilidad significativa a pesar de los importantes avances en la terapia antirreumática. Los antecedentes familiares de artritis reumatoide son un indicador del riesgo genético y, en parte, ambiental de un individuo de desarrollar artritis reumatoide, y son un predictor bien reconocido del inicio de la enfermedad. Aunque los antecedentes familiares de artritis reumatoide son un concepto antiguo, el grado de agregación familiar, si difiere por edad, sexo o serología, y qué valor tiene para las decisiones clínicas una vez que se ha hecho un diagnóstico, no está claro. Han aparecido nuevos datos en paralelo a los avances sustanciales realizados en los estudios de asociación genética. Se ha descrito las diversas formas en que se ha medido la agregación familiar y cómo los hallazgos de estos estudios, ya sean basados en gemelos, cohortes de parientes de primer grado o datos genéticos, se corresponden entre sí y ayudan a comprender la etiología de la artritis reumatoide. Además, se ha revisado la utilidad potencial de los antecedentes familiares de artritis reumatoide desde un punto de vista clínico, demostrando que, los antecedentes familiares todavía tienen un papel en la dirección de la toma de decisiones clínicas y la investigación. La artritis reumatoide se agrupa en familias, lo que significa que los familiares de pacientes con artritis reumatoide tienen un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad. De hecho, los antecedentes familiares han sido reconocidos durante mucho tiempo como uno de los factores de riesgo más importantes para desarrollar esta enfermedad y, como tal, se evalúan de forma rutinaria como parte del estudio clínico de las personas con artritis inflamatoria.

La artritis reumatoide y la enfermedad periodontal (EP) tienen procesos patológicos similares y comparten una desregulación general de la respuesta inflamatoria. Los estudios se han centrado en las primeras etapas de la artritis reumatoide, informando que los autoanticuerpos como el factor reumatoide (FR), los anticuerpos anti-proteína citrulinada (ACPA) y el aumento de los reactantes de fase aguda conlleva a la presentación clínica. Estos autoanticuerpos pueden estar

presentes por varios años antes de que los síntomas clínicos se hagan evidentes. Las personas con autoanticuerpos y artralgia tienen un riesgo aproximadamente del 30% de desarrollar artritis reumatoide en un año. El locus del epítipo compartido (EC) HLA-DRB1 representa la mayor parte del riesgo genético de artritis reumatoide; su presencia se correlaciona con niveles elevados de ACPA, y se ha mencionado de una asociación entre este EC y la destrucción del hueso periodontal. Según el consenso, los estudios de investigación deberían incluir otros tejidos además del cartílago, como los tejidos periodontales, donde la respuesta inmune adaptativa podría potencialmente desencadenar una inflamación donde aumente los factores de riesgo y biomarcadores para el desarrollo de la artritis reumatoide. Es posible que los tejidos periodontales y las articulaciones sean objetivos del mismo proceso autoinmune; apoyando así la hipótesis de que la periodontitis es una característica extraarticular de la artritis reumatoide.

Los datos de la literatura apoyan la posibilidad de que la obesidad tenga un papel en la patogénesis de la artritis reumatoide. El tejido adiposo de los individuos obesos secreta leptina, TNF- α , IL-6, interleucina-1 β y proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) los cuales son marcadores antiinflamatorios. Estas adipocinas inducen la producción de marcadores inflamatorios. Los estudios han demostrado niveles elevados de estos marcadores inflamatorios en individuos previamente a la aparición de los síntomas clínicos. La investigación y las intervenciones centradas en los tejidos que producen estas citocinas en estadios preclínicos pueden mejorar la predictibilidad del riesgo de desarrollar artritis reumatoide, lo cual es relevante, considerando la evidencia que sugiere que este proceso ocurre no solo en la sinovia sino también en extra- compartimentos articulares, como el tejido graso.

Una revisión sistemática reciente encontró una asociación entre el sobrepeso / obesidad y el nivel de actividad inflamatoria en pacientes con artritis reumatoide, lo que sugiere una estrecha relación entre la carga inflamatoria y la cantidad grasa. Por lo tanto, la probabilidad de desarrollar AR es mayor en individuos que presentan obesidad y susceptibilidad genética, como familiares de pacientes con artritis reumatoide.

2. Marco teórico

2.1 Artritis Reumatoide (AR)

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica de etiología desconocida, que afecta al 0.5-1.0% de la población adulta. Es una enfermedad compleja y multifactorial en la que la inflamación crónica de las articulaciones sinoviales y la erosión del hueso provocan la destrucción de las articulaciones, el dolor, la discapacidad y una esperanza de vida reducida. Se estima que las influencias genéticas son responsables de alrededor del 50-60% del riesgo de desarrollar AR (1), con factores ambientales que dan razón al resto. La reciente caracterización de las proteínas citrulinadas como objetivos principales para el inicio de la reacción autoinmune en la AR ha permitido investigar el paradigma de que la patología de la enfermedad está mediada por autoanticuerpos específicos, que a su vez son inducidos por la interacción de factores de riesgo genéticos y el medio ambiente(1). Esta tríada de factores (autoanticuerpos, genes y medio ambiente) es, por supuesto, una gran simplificación de las diversas y complejas vías que subyacen a las manifestaciones clínicas observadas en la AR. Sin embargo, sirve como una plantilla útil para abordar un problema fundamental, a saber, lo que realmente causa la enfermedad (1).

A diferencia de muchas otras enfermedades autoinmunes, donde los principales autoantígenos y su participación en la patología de la enfermedad se caracterizaron a nivel molecular hace varias décadas, los autoantígenos en la AR continúan investigándose. Históricamente, el factor reumatoide (FR), un anticuerpo reactivo con la porción Fc de IgG, fue el principal marcador serológico para el diagnóstico de AR por mucho tiempo y todavía se usa como uno de los criterios para la clasificación de la enfermedad(2). Sin embargo, los FR también se producen en otras enfermedades autoinmunes, infecciones y en el 5% de la población sana, y por lo tanto pueden ser simplemente una consecuencia de la activación policlonal de las células B(3)

Dada la falta de especificidad de la enfermedad de los RF, es difícil corroborar el concepto de que la IgG es el único antígeno específico que impulsa la respuesta inflamatoria destructiva que caracteriza a la AR. El interés se ha centrado recientemente en las proteínas citrulinadas como los verdaderos autoantígenos en la AR. Un ensayo prototipo fue descrito hace más de 40 años como la prueba del factor anti-perinuclear; aunque en ese momento, no se sabía que estaba detectando

anticuerpos anti-proteína citrulinada. Se usaron células de la mucosa bucal humana como sustrato, y los anticuerpos reactivos con estructuras granulares alrededor del núcleo se detectaron por inmunofluorescencia indirecta (3).

La citrulina, en el contexto de un esqueleto peptídico, es un aminoácido no estándar que resulta de la modificación postraducciona de los residuos de arginina. Esta conversión, denominada citrulinación, reduce la carga neta de la proteína por la pérdida de una carga positiva por residuo de citrulina. La citrulinación es catalizada por una familia de enzimas peptidilarginina deiminasa (PAD) dependientes de calcio (4). Se han encontrado cinco miembros de la familia PAD (PAD1, PAD2, PAD3, PAD4 y PAD6) con diferente distribución de tejido, localización subcelular y sustratos en humanos (5). De particular relevancia para la AR son PAD2 y PAD4, ya que su expresión se ha demostrado en la membrana sinovial reumatoide (4), las células del líquido sinovial (6) y extracelularmente en el líquido sinovial(7).

Los residuos de arginina dentro de los polipéptidos a menudo juegan un papel central en la integridad estructural de una proteína, debido a su capacidad para participar en interacciones iónicas con cadenas laterales, sustratos y cofactores de aminoácidos cargados negativamente, y para formar múltiples enlaces de hidrógeno a la cadena principal del péptido y otras cadenas laterales de aminoácidos (8). La arginina también tiene la más polar de todas las cadenas laterales de aminoácidos comunes y, por lo tanto, es el aminoácido que es más probable que se encuentre en la superficie de las proteínas en un entorno acuoso (8). Se esperaría que la citrulinación destruya las interacciones iónicas, interfiera con los enlaces de hidrógeno y cree nuevas interacciones. Por lo tanto, la conversión de arginina en citrulina puede dar como resultado una estructura tridimensional alterada y la función de una proteína.

En la AR, los efectos de la citrulinación son de particular importancia con respecto al cambio potencial en la antigenicidad de las proteínas. Se informó que el cambio de plegamiento de ciertas proteínas tras la citrulinación era similar al observado en presencia de altas concentraciones de urea (> 4.5 M) (9) y podría exponer claramente nuevos epítomos al sistema inmune, ya sea

directamente como resultado del cambio estructura tridimensional o indirectamente debido a procesamiento proteolítico alterado y presentación de Complejo Mayor de Histocompatibilidad-CMH clase II. Se ha demostrado que la citrulinación de albúmina de suero de rata (ASR), por ejemplo, rompe la tolerancia inmune en ratas en presencia de adyuvante.

La simple sustitución de una única arginina por citrulina en un péptido pequeño puede alterar fundamentalmente la unión del péptido a ambos anticuerpos y a las moléculas de CMH clase II. Por lo tanto, la presencia de proteínas citrulinadas como autoantígenos y su distribución en los tejidos inflamados son de importancia crítica en nuestra comprensión de la patogénesis de la AR (10).

La artritis reumatoide temprana se ha diagnosticado gracias a criterios clínicos, como antecedentes y hallazgos físicos, pruebas de laboratorio y radiografías. Al tener el diagnóstico temprano y al realizar tratamientos agresivos para tratar sintomatologías, daños y discapacidades, es necesario mejorar la identificación y el diagnóstico de ésta.(11) Los ensayos que detectan el factor reumatoide (FR), anticuerpos dirigidos contra la porción Fc de la molécula de inmunoglobulina G (IgG), han sido las pruebas serológicas para el diagnóstico de artritis reumatoide. Los ensayos de anticuerpos anti-péptidos citrulinados (anti-CCP) ahora se están empleando clínicamente. Dado que los anti-CCP están presentes antes del inicio de los síntomas de la AR y son predictivos del desarrollo de la AR, son una prueba diagnóstica valiosa en las primeras etapas del curso de la enfermedad. Los anti-CCP se caracterizan por su desarrollo reciente y su papel potencial en la identificación mejorada de AR temprana e indiferenciada.

La citrulinación es una modificación postraducciona de residuos de arginina en polipéptidos (peptidilarginina) para formar residuos de citrulina(11).

La reacción es catalizada por una familia de cinco enzimas peptidilarginina desiminasa (PAD) 1-4 y 6. La citrulinación cambia las cargas de las moléculas y puede alterar funciones como la susceptibilidad a la proteólisis. Está fisiológicamente involucrado en la respuesta inmune, regulación de genes, apoptosis, etc. La citrulinación ganó la mayor atención relacionada con la artritis reumatoide (AR). Los anticuerpos IgG contra proteínas citrulinadas se han caracterizado como específicos de enfermedad. Mientras tanto, cada vez más estudios se centran en la relación entre la periodontitis y la artritis reumatoide (AR). Tanto la AR como la periodontitis son

enfermedades inflamatorias crónicas con una patobiología similar caracterizadas por destrucción ósea y tisular y altos niveles de marcadores inflamatorios. En pacientes con AR, se encontró que la periodontitis era más prevalente que en aquellos sin AR. Se informó una mayor prevalencia de AR en pacientes con periodontitis. Algunos estudios han analizado la citrulinación en el periodonto(12).

Se mostró expresión de PAD-2 y PAD-4, así como proteínas citrulinadas en tejido periodontal. En los pacientes con AR, las proteínas formadas en la región periodontal parecían ser similares a las del líquido sinovial. Recientemente, hemos confirmado una actividad de los PAD y PPAD humanos en el líquido gingival de pacientes con AR y periodontitis. Además, se encontró citrulinación en lavados creviculares gingivales de aproximadamente el 50% de los pacientes, independientemente del estado de AR, pero en fuerte asociación con la enfermedad periodontal.(12)

2.2 Factores de riesgo de la Artritis Reumatoide

La etiología de la AR se considera multifactorial: los antecedentes familiares de AR y la presencia de genes del CMH de clase II aumentan la susceptibilidad de la AR; la presencia de FR y de Anti-CCP contribuyen a los mecanismos de autoinmunidad y factores ambientales como el tabaquismo(13) y la obesidad, y la predisposición genética.(14)

En investigaciones recientes se ha descubierto que los autoanticuerpos circulantes(14) y el aumento de los reactantes de fase aguda(15) pueden estar presentes en la fase clínica inicial de la AR, pero solo una minoría de individuos con autoanticuerpos específicos contra la AR desarrolla realmente AR clínicamente (16). Sin embargo, la detección de estos autoanticuerpos puede definir a los pacientes con autoinmunidad sistémica asociada con AR que no presentan aún manifestaciones clínicas de artritis, como individuos que tienen riesgo de desarrollar AR.

Se acordó por unanimidad la necesidad de identificar factores de riesgo y biomarcadores adicionales para el desarrollo de AR. Cada factor establecido y supuesto tendrá que estar claramente definido, a fin de armonizar la clasificación de los individuos entre las cohortes, por ejemplo, como un genotipo preciso en lugar de una proporción impar alélica para un factor genético. Se identificó una clara necesidad de evaluar para qué fases eran factores de riesgo /

biomarcadores. Por ejemplo, un factor de riesgo particular puede ser relevante solo para la progresión al desarrollo de autoinmunidad sistémica asociada con la AR, pero si se evalúa en pacientes en esa fase, no sería un factor de riesgo para la progresión, aunque para el desarrollo de AR. Por el contrario, un factor de riesgo diferente puede ser relevante para la progresión de artritis no clasificada al desarrollo de AR. Utilizando el conocimiento de los factores de riesgo importantes en cada fase, los modelos de estratificación y predicción del riesgo podrían identificar a las personas que se beneficiarían de la intervención aplicable a esa fase.(17)

2.3 Factores Genéticos en Artritis Reumatoide

Se ha sugerido fuertemente que la genética es una gran influencia en el desarrollo de la AR. Se evidencia en el aumento general de la prevalencia de AR en las familias, con mayores riesgos observados en familiares en primer grado de consanguinidad(18). El factor de riesgo genético más importante es un conjunto de alelos dentro del CMH como se mencionó previamente que codifica secuencias de aminoácidos que predicen similitudes estructurales en el surco de unión al péptido del antígeno leucocitario humano (HLA) y se denominan como “epítipo compartido” (EC) (19). Como grupo, se cree que los alelos del grupo del EC contribuyen en un 40% del riesgo genético de AR (20). La nomenclatura y el sistema de clasificación del EC se basa en la importancia de los aminoácidos en las posiciones 70 y 71 para conferir riesgo de AR (21). Se ha descubierto que el HLA es un factor de riesgo genético muy importante para la AR, que representa entre el 30% y el al 50% de la susceptibilidad genética general a la AR(22). La hipótesis del epítipo compartido (EC) describió la relación entre los alelos HLA-DRB1 y la artritis reumatoide (23). HLA-DRB1 que codifican el EC (DRB1 * 01, * 04, * 10 y * 14) están asociados con la severidad de la artritis reumatoide y se han relacionado con la producción de anticuerpos anti-péptidos citrulinados (anti-CCP).(24)

Algunos estudios han demostrado que las proteínas / péptidos citrulinados, en comparación con sus contrapartes que contienen arginina, se unen preferentemente al EC y se presentan de forma más eficaz a las células T (25) y así se plantea la hipótesis de que el EC juega un papel importante en la patogénesis de la AR y, en particular, en los pacientes que son anticuerpos anti-CCP positivos

dado que facilita la inducción de la producción de estos autoanticuerpos. También se han asociado muchos otros factores genéticos con la AR, con estudios de todo el genoma que identifican más de 100 loci que están asociados con la AR y que, en conjunto, pueden explicar 5% de la asociación genética con la AR fuera del EC (25).

Estudios recientes también han sugerido que el polimorfismo de la proteína PTPN22 también puede conducir a hipercitrulinación debido a interacciones PTPN22 alteradas con peptidilarginina deiminasa (PAD), una enzima responsable de la citrulinación, aunque se desconoce si esta hipercitrulinación está dirigida por respuestas inmunes o la funcionalidad impulsa otros procesos que conducen a la autoinmunidad [18]. Existen otras asociaciones con genes que se encuentran en vías inflamatorias implicadas en la AR y con genes relacionados con enzimas que posiblemente podrían participar en las respuestas autoinmunes, incluidas las enzimas PAD que median la citrulinación (26).

2.4 Periodontitis y Artritis Reumatoide

La enfermedad periodontal es causada por la interacción entre microorganismos patógenos y la respuesta del huésped, lo que provoca la destrucción de los tejidos que sostienen los dientes. Este proceso es inducido por bacterias, mediadores inflamatorios y células de defensa que indirectamente causan daño al periodonto(27).

En la periodontitis, la bacteria *Porphyromonas gingivalis*- *P. gingivalis* es un agente causal principal, se puede detectar en el 80–90% de los pacientes con periodontitis y en el 10–30% de los sujetos sanos (28). La bacteria ha atraído recientemente el interés basado en los vínculos epidemiológicos entre la AR y la periodontitis (29) y la descripción de una nueva peptidilargininas deiminasa (PAD) bacteriana (29), lo que sugiere un posible papel etiológico de *P. gingivalis* en la AR a través de la generación de antígenos citrulinados(30).

Por otro lado, la *P. gingivalis* es un microorganismo con diversos factores de virulencia; Las proteasas extracelulares llamadas gingipaínas están implicadas en la adherencia, el crecimiento y la invasión tisular, así como en la evasión de la respuesta inmunitaria.(31)La peptidilarginina deiminasa (PAD) de *P. gingivalis* se ha implicado en el inicio de la AR basada en la generación de

neoantígenos citrulinados(32). En las células procariotas, la actividad de las PAD se ha identificado solo en estas bacterias, lo que haría relevante la presencia de esta enzima en la autoinmunidad en sitios distales de la articulación, como la encía.(30).

A diferencia de la enfermedad periodontal, la AR es una enfermedad autoinmune con bases genéticas y epigenéticas sin un factor etiológico específico. Sin embargo, comparten algunas características, incluida la presencia de varios modificadores de la respuesta inmunitaria de un huésped genéticamente susceptible como el tabaquismo, infecciones y otros factores ambientales.(27)

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) está relacionado con el desarrollo de AR y enfermedad periodontal. Esta citocina se encuentra en el suero y los tejidos inflamados, y los niveles de TNF-alfa están relacionados con la actividad de la enfermedad y el daño tisular(27). El TNF-alfa promueve la destrucción periodontal y articular a través de la activación de los osteoclastos, la producción de otras citocinas inflamatorias (IL-1 e IL-6), la activación de células polimorfonucleares y macrófagos y la inducción de la liberación de especies reactivas de oxígeno, que contribuyen a la destrucción tisular(33). Algunos estudios informaron una mayor prevalencia de enfermedad periodontal en pacientes con AR que en poblaciones sanas, y la AR se asocia con una mayor pérdida de dientes(34).

2.5 Periodontitis y Artritis Reumatoide y en familiares en primer grado de consanguinidad

Numerosos estudios se han centrado en las primeras etapas de la AR, informando que los autoanticuerpos como el factor reumatoide (FR), los anticuerpos anti-proteína citrulinada (ACPA) y el aumento de los reactantes de fase aguda preceden a los síntomas clínicos. Estos autoanticuerpos pueden estar presentes durante cinco a diez años antes de que estos síntomas se hagan evidentes. Las personas con autoanticuerpos y artralgia tienen un riesgo del 30% de desarrollar AR en un año. El locus del epítipo compartido (EC) HLA-DRB1 representa la mayor parte del riesgo genético de AR (hasta el 50%); su presencia se correlaciona con niveles elevados de ACPA, y se ha destacado una asociación entre este EC y la destrucción del hueso(35).

La periodontitis juega un papel importante en la AR debido a su componente microbiológico. *P. gingivalis* muestra una relación con la presencia de autoanticuerpos anti-péptido citrulinado

cíclico (anti-CCP), que es un marcador previo a la manifestación clínica de la AR. Este microorganismo puede inducir la citrulinación de proteínas que son importantes en el proceso de autoinmunidad y que contribuyen a la pérdida de la auto-tolerancia y la producción de autoanticuerpos anti-CCP. Sin embargo, los niveles séricos de leptinas aumentan durante procesos inflamatorios como los que ocurren durante la periodontitis(36).

2.6 Obesidad y Artritis Reumatoide

El tejido adiposo es vital para la vida de los mamíferos. Representa la principal fuente de ácidos grasos (AG) en el estado de ayuno posprandial para el uso de energía y la producción de calor. Dos tipos de tejido adiposo están presentes en los mamíferos: el tejido adiposo blanco (TAB) y el tejido adiposo marrón (TAM). No solo tienen funciones diferentes, sino también una composición y localización celular diferente. (37)

El TAB constituye el componente principal del tejido adiposo del cuerpo, proporciona la mayor parte de la grasa corporal total y es la fuente de AG, utilizada como sustratos energéticos para la generación a través de la fosforilación oxidativa de los enlaces de alta energía del trifosfato de adenosina (ATP). TAB se dispersa en diferentes sitios del cuerpo anatómico. Sus depósitos principales son intraabdominales alrededor del epiplón, intestinos y áreas perirrenales, y subcutáneos en las nalgas, muslos y abdomen(38).

Su acumulación excesiva podría surgir y determinar el desarrollo de la obesidad y las enfermedades relacionadas con la obesidad. Muy común es el exceso de TAB en las partes superiores del cuerpo, la llamada "obesidad central", que representa un factor de riesgo para algunas patologías inflamatorias. El exceso de TAB en otros sitios de la parte inferior del cuerpo da lugar a la llamada "obesidad ginoidea" sin complicaciones metabólicas. Para comprender la diferente distribución de TAB y su diferente vínculo con las complicaciones metabólicas e inflamatorias, se han encontrado varias teorías. Entre estos, se han considerado dos teorías, no mutuamente excluyentes. La primera se basa en la anatomía de la obesidad central y su capacidad para drenar AG y mediadores inflamatorios en la circulación portal, donde pueden actuar preferentemente en el hígado para afectar el metabolismo (37). La segunda habla de la biología

celular y las diferentes propiedades de las células TAB relacionadas con un riesgo mayor o menor de desarrollar enfermedades metabólicas e inflamatorias (38).

A diferencia de TAB, TAM proporciona gasto de energía de la fosforilación no oxidativa en forma de calor en gran medida para la adaptación al frío (39). El desacoplamiento de la fosforilación en TAB se debe a la actividad de desacoplamiento de la proteína-1, expresada en la membrana mitocondrial interna, que al crear una fuga de protones agota el gradiente electroquímico necesario para la fosforilación oxidativa. Como consecuencia, la TAM afecta el uso de energía al producir calor a partir de la fosforilación oxidativa no acoplada. A diferencia de TAB, TAM también presenta un número menor de células grasas, que tienen suministros vasculares más ricos con cromógenos mitocondriales más abundantes, responsables del color marrón (40). El TAM con un suministro vascular más rico responde más rápidamente a la estimulación del sistema nervioso simpático (SNS), que luego provoca la producción de calor, en lugar de la producción de ATP, de la termogénesis adaptativa al frío no temblorosa(41). Por lo tanto, TAM muestra una función diferente con respecto a TAB y, en la mayoría de los mamíferos, es responsable del calor de la fiebre, el estado de excitación de la hibernación y la termogénesis inducida por el frío (42). En humanos, TAB es difícil de encontrar postnatalmente. Sin embargo, la tomografía por emisión de positrones ha demostrado claramente en humanos adultos depósitos de TAM metabólicamente activos en las regiones del cuerpo cervical, supraclavicular, axilar y paraventral. Estos depósitos pueden ser inducidos en respuesta al frío y a la activación del SNS (43). Esto destaca a TAM como un objetivo potencial relevante para la manipulación farmacológica y de expresión génica para combatir la obesidad humana(44).

2.6.1 Adipocinas

TAB libera cientos de moléculas biológicamente activas, las "adipocinas", que incluyen más de 50 citocinas, quimiocinas, factores similares a las hormonas y otros mediadores los cuales no necesariamente son producidos por las células TAB (45), estos mediadores son liberados por diferentes tejidos y órganos con funciones no relacionadas con estas células(46). Las adipocinas afectan el apetito y la saciedad, el metabolismo de la glucosa y los lípidos, la regulación de la

presión arterial, la inflamación y las funciones inmunes (47). Precisamente, funcionan como una red para regular la inflamación, la acción de la insulina y el metabolismo de la glucosa a nivel local y sistémico. Este sistema de redes de adipocinas / citocinas está alterado en la obesidad, lo que contribuye al estado de inflamación y al metabolismo de los adipocitos alterados. Sin embargo, no se comprende claramente cómo las adipocinas y las citocinas regulan de manera coordinada la inflamación y el metabolismo relacionados con la obesidad(48).

Los receptores de inmunidad innata, como el receptor Toll-like (TLR) -4 y -2, se expresan en TAB (particularmente por adipocitos, preadipocitos, macrófagos y células endoteliales) y están involucrados en este proceso inflamatorio relacionado con la obesidad(49). Diferentes mecanismos están involucrados en la secreción de adipocinas. La producción de adipocinas inflamatorias (tales como citocinas proinflamatorias, quimiocinas, moléculas asociadas con trombosis e hipertensión, etc.) parece ser compleja e involucra varias vías inflamatorias, activadas por mediadores extracelulares y estresores intracelulares. Entre los factores extracelulares, los AG son los inductores principales de estas vías(50).

Las moléculas de adipocinas antiinflamatorias, como la adiponectina(51) parecen liberarse mediante la activación de diferentes factores de transcripción inducidos por los receptores PPAR- γ y LXR(52). En condiciones de sobrenutrición, las proteínas de unión a ácidos grasos, FABP, probablemente secuestran ligandos de PPAR- α y LXR y no inducen la activación de estos factores de transcripción(53).

2.6.2 Adipocinas y enfermedad periodontal

Las citocinas proinflamatorias pueden desempeñar un papel fundamental en la estrecha relación entre periodontitis, obesidad y enfermedades crónicas (54). En condiciones orales saludables, la obesidad como tal no promueve alteraciones periodontales patológicas; sin embargo, el acumulo de placa bacteriana, la inflamación y destrucción periodontal fueron más graves en los animales obesos. En ratas obesas e hipertensas, la acumulación de placa provocó una destrucción del periodonto aún más pronunciada que en animales obesos, lo que sugiere que la combinación de factores de riesgo, como los definidos por el síndrome metabólico, provoca los efectos periodontales más graves(55). Estudios recientes han indicado que el tejido adiposo,

especialmente el tejido adiposo visceral, es un órgano importante que secreta varias sustancias bioactivas conocidas como adipocitocinas, que incluyen el factor de necrosis tumoral- α (56). Estos pueden afectar directamente al tejido periodontal. El factor de necrosis tumoral- α media la lesión inducida por endotoxinas en varios órganos, incluido el tejido periodontal.

Las enfermedades inflamatorias como la periodontitis inducen la producción de citocinas proinflamatorias como TNF-, IL-1 e IL-6 (57). Se ha sugerido que la secreción de TNF- α por el tejido adiposo desencadenada por LPS de bacterias periodontales Gramnegativas promueve la dislipidemia hepática y disminuye la sensibilidad a la insulina (58). La diabetes tipo 2 y la disminución de la sensibilidad a la insulina están asociadas con la producción de productos finales de glicación avanzada, que desencadenan la producción de citocinas inflamatorias, lo que predispone a enfermedades inflamatorias como la periodontitis (59).

Por otro lado, una adipocina que se relaciona con la enfermedad periodontal es la leptina, la leptina es la sustancia más conocida secretada por el tejido adiposo. La leptina estimula el sistema inmunológico ya que mejora la producción de citocinas y la fagocitosis por parte de los macrófagos (60). Se ha informado de una fuerte relación negativa entre los niveles plasmáticos de leptina e interleucina-6 en la sepsis (61). Más recientemente, se descubrió que la leptina actúa en la formación de hueso (62). Se ha informado que la leptina está presente dentro de la encía sana y marginalmente inflamada y disminuye en concentración a medida que aumenta la profundidad de sondaje adyacente(62). Por tanto, la leptina puede desempeñar un papel importante en el desarrollo de la periodontitis (63).

3. Planteamiento del problema

Se ha sugerido firmemente que la genética tiene una gran influencia en el desarrollo de la artritis reumatoide (AR). Se evidencia en el aumento generalizado de la prevalencia de AR en las familias, siendo los familiares de primer grado los de mayor riesgo. La presencia de anticuerpos de factor reumatoide y péptido citrulinado cíclico (CCP) contribuye a los mecanismos de autoinmunidad, así como a factores ambientales como el tabaquismo y la obesidad. La detección de autoanticuerpos específicos de AR puede definir a los individuos con autoinmunidad sistémica asociada a AR, que aún no presentan manifestaciones clínicas de artritis, como individuos con riesgo de desarrollar AR. La *Porphyromonas gingivalis* ha atraído interés recientemente desde los vínculos epidemiológicos entre la AR y la periodontitis y la descripción de una nueva peptidil arginina deiminasa (PAD) bacteriana con funciones similares a las humanas, lo que sugiere un posible papel etiológico de esta bacteria en la AR a través de la generación de antígenos citrulinados. La AR y la enfermedad periodontal son condiciones en las que se ha descrito el impacto del sobrepeso / obesidad en su desarrollo. El tejido adiposo y los adipocitos tienen un papel crucial en este proceso a través de la producción de múltiples adipocinas.

Dada la hipótesis en donde la presencia de marcadores inflamatorios podría estar directamente relacionadas con el aumento del riesgo de desarrollar AR se crea el interés de investigar los niveles de leptina, adiponectina, resistina y vaspina en individuos familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR comparado con individuos sanos. Así mismo, se explora si los niveles de las adipocinas ajustadas a edad, IMC y género varían en individuos familiares en primer grado de consanguinidad comparados con controles sanos.

4. Justificación

Según El Colegio Americano de Reumatología (ACR) los estudios de investigación deberían incluir otros tejidos además del cartílago, como los tejidos periodontales, donde la respuesta inmune adaptativa podría potencialmente desencadenar una inflamación donde aumente los factores de riesgo y biomarcadores para el desarrollo de la AR. Es posible que los tejidos periodontales y las articulaciones sean objetivos del mismo proceso autoinmune; apoyando así la hipótesis de que la periodontitis es una característica extraarticular de la AR.

Los datos de la literatura apoyan la posibilidad de que la obesidad tenga un papel en la patogénesis de la AR. El tejido adiposo de los individuos obesos secreta leptina, TNF- α , IL-6, interleucina-1 β y proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) los cuales son marcadores proinflamatorios. Estas adipocitocinas(adipocinas y citocinas) inducen la producción de marcadores inflamatorios. Los estudios han demostrado niveles elevados de estos marcadores inflamatorios en individuos previamente a la aparición de los síntomas clínicos. La investigación y las intervenciones centradas en los tejidos que producen estas moléculas en estadios preclínicos pueden mejorar la predictibilidad del riesgo de desarrollar AR, lo cual es relevante, considerando la evidencia que sugiere que este proceso ocurre no solo en la sinovia sino también en extra-compartimentos articulares, como el tejido graso.

Una revisión sistemática reciente encontró una asociación entre el sobrepeso / obesidad y el nivel de actividad inflamatoria en pacientes con AR, lo que sugiere una estrecha relación entre la carga inflamatoria y la cantidad grasa. Por lo tanto, la probabilidad de desarrollar AR es mayor en individuos que presentan obesidad y susceptibilidad genética, como familiares de pacientes con AR.

La información actual soporta la necesidad de evaluar en individuos familiares en primer grado de consanguinidad comparándolos con individuos sanos si los valores serológicos de adipocinas y marcadores clínicos, inmunológicos y periodontales son factores asociados que puedan aumentar el riesgo de desarrollar la condición clínica de la enfermedad y determinar si existe una relación entre los diferentes niveles de adipocinas y la presencia o ausencia de la enfermedad periodontal y su severidad.

5. Objetivos

5.1. *Objetivo general*

Establecer la asociación entre los niveles de adipocinas y marcadores clínicos, inmunológicos y periodontales como indicadores de riesgo en familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR.

5.2. *Objetivos específicos*

- Determinar los niveles de leptina, adiponectina, resistina y vaspina en individuos familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide y controles sanos.
- Comparar los niveles de leptina, adiponectina, resistina, vaspina ajustados a edad, IMC, género en primer grado de consanguinidad de pacientes con artritis reumatoide frente a individuos de población general sistémicamente sanos.
- Establecer la asociación entre los niveles de leptina, adiponectina, resistina, vaspina e índices clínicos y variables microbiológicas e inmunológicas periodontales en individuos familiares con primer grado de consanguinidad de pacientes con AR.

5.3. *Hipótesis*

Ho: En individuos consanguíneos en primer grado de AR son las adipocinas más los marcadores clínicos, microbiológicos e inmunológicos periodontales indicadores de riesgo para desarrollar AR.

Hn: En individuos consanguíneos en primer grado de AR no son las adipocinas más los marcadores clínicos, microbiológicos e inmunológicos periodontales indicadores de riesgo para desarrollar AR

5.4. *Tipo de estudio*

Estudio de corte transversal

5.5. Población y muestra

Grupo de individuos familiares consanguíneos de pacientes con AR pertenecientes al proyecto: Comparación de los niveles de adipocinas, autoanticuerpos y periodontitis entre individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide, artritis reumatoide temprana y controles sanos y establecer el impacto en el estado articular”, Convocatoria interna Hospital Militar 2016.

6. Materiales y métodos

6.1. Criterios de Inclusión para individuos familiares en primer grado de pacientes con AR

Individuos sanos mayores de 18 y menores de 65 años familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR (41).

6.2. Criterios de exclusión para individuos familiares de pacientes con Artritis reumatoide y controles sanos

Individuos con proceso infeccioso en curso o diagnóstico de neoplasia.

Individuos con diagnóstico de diabetes mellitus.

Individuos que rehúsen entrar al estudio y por tanto no firmen el consentimiento informado.

Individuos con dificultades para completar la información pertinente

Individuos que se encuentren bajo tratamiento antibiótico tres meses previos a la toma de las muestras.

Individuos con aparatología ortodóntica.

Individuos que hayan tenido terapia periodontal en los últimos 6 meses.

Individuos en embarazo o lactancia.

6.3. Criterios de inclusión grupo control:

Individuos sanos mayores de 18 y menores de 65 años, que aceptaron participar en el estudio y que ofrecieron participar voluntariamente y que firmaron voluntariamente el formato de consentimiento informado.

6.4. Lugar de la investigación

Servicio de Reumatología Hospital Militar Central

Instituto INMUBO, Universidad El Bosque.

6.5. Marcadores de Laboratorio

- Velocidad de Sedimentación Globular (VSG)
- Proteína C Reactiva (PCR)
- Anticuerpos antipéptidos citrulinados cíclicos (Anti-CCP)
- Niveles de leptina, adiponectina, resistina, vaspina, adiposina

6.6. Evaluación periodontal:

A cada paciente se le evaluaron índices clínicos tomados por un periodoncista los cuales participaron en una calibración inter-examinador incluyendo sondaje de la mitad de la boca de dos sujetos en dos oportunidades en la misma semana y se evaluaron con pruebas de concordancia. Antes de iniciar el estudio cada examinador fue entrenado a adecuados niveles de exactitud y reproducibilidad a los parámetros clínicos e índices a ser utilizados. Se realizaron evaluaciones repetidas antes del estudio sobre 5 sujetos seleccionados aleatoriamente con el fin de determinar la reproducibilidad intra examinador.

Se tomaron estos índices en el siguiente orden:

- 1) Índice Gingival (Loe & Silness 1963) [Loe et al 1.963]
- 2) Índice de Placa
- 3) Profundidad de la Bolsa
- 4) Nivel de Inserción
- 5) Sangrado al Sondaje

De acuerdo con la severidad de la enfermedad los pacientes serán agrupados en dos categorías de acuerdo con el promedio del nivel de inserción de los sitios afectados:

- A. Periodontitis crónicas leves a moderadas
- B. Periodontitis Avanzadas
- C. Sanos-Gingivitis

De acuerdo con el estado inflamatorio se clasificarán de acuerdo

A. Al promedio de la profundidad de la bolsa.

* Total de la boca

* Promedio de bolsas presentes

B. Al promedio de los sitios con sangrado.

6.7. Métodos de laboratorio

6.7.1. Cuantificación de anticuerpos anti citrulinado:

Se utilizó para la medición cuantitativa de los anticuerpos de las clases IgG/IgA contra péptido citrulinado en muestras séricas un sistema inmunoenzimático de ELISA tipo sándwich (referencia Quanta lite® CCP 3.1 IgG/IgA, INNOVA Diagnosis, San Diego, CA, USA y IMTEC –ITC 60015).

El resultado final se expresa como Unidades ELISA/mL. Se consideraron resultados positivos mayores a 20 UI/mL.

6.7.2. Medición de PCR ultrasensible: (Immulate 1000, Siemens®, referencia 10286287 High sensitive CRP)

Se realizó por técnica cuantitativa de quimioluminiscencia, considerándose su fundamento como la emisión de luz asociada con la disipación de la energía con una sustancia electrónicamente excitada. En caso de reaccionar la molécula de PCR con el anticuerpo de detección los electrones de un componente luminiscente son estimulados por una luz en estado normal, estos dan energía en forma de luz cuando ellos regresan al estado basal. El resultado final es reportado en mg/L. Considerándose positivos niveles en suero mayores a 3 mg/L

6.7.3. Medición de Factor Reumatoide IgM (Spinreact ref 110705)

Se midió por técnica de turbidimetría cinética, se detectó la luz que es residual que se genera posterior al choque de la luz con los complejos antígeno-anticuerpo que se forman en caso de poseer el FR. Al suero de la muestra se le agregó un anticuerpo dirigido contra el FR el cual en caso positivo formó un agregado sobre el cual un láser detectará y generará dispersión de la luz,

la cual fue cuantificada e informada en UI/mL y se consideró positivos resultados superiores a 20 U

6.7.4 Medición de la velocidad Globular

La determinación de la VSG se realizó por el método de Westergreen. En esta técnica se mide la velocidad de sedimentación de los eritrocitos en una hora, utilizando sangre anticoagulada con EDTA que se introduce en una columna la cual se deja sedimentar. La columna utilizada esta graduada hasta 100mm³ con un diámetro de 1mm. El resultado al finalizar una hora cronometrada indica cuantos milímetros cúbicos se sedimentaron o asentaron los glóbulos rojos durante esa hora. Se consideró elevados valores superiores a 20 mm

6.7.5. Inmuno-Ensayo indirecto en fase solida (ELISA) para la determinación de anticuerpos IgG1 e IgG2 contra Porphyromonas gingivalis.

Se realizó un inmuno ensayo indirecto en fase solida (ELISA) para la detección de anticuerpos IgG1 e IgG2 contra *P. gingivalis* estandarizada en el grupo de investigación, para ello, se fija el antígeno de *P. gingivalis* en placas de ELISA (Ref. 655061 GreinerBio-one) a una concentración de 5 µg/pozo a partir de extractos sonicados de *P. gingivalis* ATCC 33277 y W83 a 4°C durante 16 horas (toda la noche). Se bloquean con 150 ul del buffer los sitios inespecíficos con PBS 1X Tween (Ref. p1379 Sigma-Aldrich,EEUU) 0.1%, Albúmina sérica bovina (BSA) (Ref.820451, Probumin diagnostic Grade) 1% y leche descremada 1% y 50 µL de Avidina (Ref. SP-2001 Vector Laboratories, INC); se sirven 150 µL/pozo con el fin de bloquear sitios inespecíficos.

Los sueros de los pacientes se les realizó una dilución inicial a partir de 1/100 hasta 1/400 en PBS 1X Tween 0.1% con BSA 1% agregando 100 µL/pozo de la muestra diluida, luego se adiciona anticuerpos secundarios biotinilados anti-IgG1 (Ref. A10650 Invitrogen, EEUU) y/o anti-IgG2 (Ref. B3398 Sigma-Aldrich, EEUU) en una dilución 1/4000 en solución de PBS 1X Tween 0.1% y BSA 1%, 100 µL/pozo, se incuba durante 1 hora a 37°C.

Seguido se adicionó 100µL/pozo de Estreptavidina Peroxidasa (Ref. SNN1004, Invitrogen EEUU), en una dilución de 1/1500 100 µL/pozo, y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente luego se revela la reacción con O-Fenilendiamina (OPD) (Ref.34005 Pierce Laboratories), en buffer peróxido 1X (Ref. 34062 Thermoscientific, EEUU). Finalmente, se frena la reacción 2 M de H₂SO₄ (Ref. 6057 Baker-analized). La lectura se realizó a una longitud de onda de 492 nm con una longitud de onda de referencia de 640 nm usando un lector de microplacas (Sunrise™ - Tecan). La determinación de los anticuerpos en cada una de las muestras se valoró a partir de una dilución 1/100 y en caso positivo valor de dilución final donde la absorbancia fuera dos veces el ruido de fondo y una densidad óptica mayor a 0,100.

Identificación de *P. gingivalis* por qPCR: realizado en la sección de microbiología Instituto UIBO, El ADN de *P. gingivalis* se detectó mediante la técnica de PCR cuantitativa (qPCR). Los primers y sondas fueron descritos por Boutaga et al. (27) se seleccionaron utilizando MegAlign dentro del sistema Lasergene (Lasergene system; DNASTar Inc., Madison, WI, USA.) Para buscar secuencias homólogas dentro del rRNA 16S. La amplificación por PCR se realizó en un volumen de reacción total de 25 µL. La mezcla de reacción contenía MgCl₂ 3 mM, buffer GoTaq Polymerase® 1X, dNTP 0,1 mM, sonda específica de *P. gingivalis* 0,9 µM, primers 1 µM y 0,125 U de GoTaq Polymerase® (GoTaq Polymerase® (Promega), Madison, WI, EE. UU.). Las muestras de placa desconocidas se extrapolaron a una curva estándar de datos transformados logarítmicamente de rRNA 16S de *P. gingivalis* (ATCC-33277).

6.7.6. Medición de adipocinas:

6.7.6.1. Cuantificación LEPTINA (Ref. KAP2281, Kit DIASource Leptin-EASIA) Y VASPINA (Ref. MBS267502, kit MyBioSource)

La técnica de medición de adipocinas como la leptina y vaspina fueron determinadas a partir de un inmunoensayo enzimático de fase sólida realizada en microplacas de 96 pozos. Este ensayo utiliza anticuerpos monoclonales dirigidos contra diferentes epítomos de la leptina humana o de la vaspina humana que se encuentran en la base de cada pozo de la placa. Las muestras de suero reaccionan con el anticuerpo monoclonal (AcM 1) y con un segundo anticuerpo marcado con

peroxidasa de rábano (HRP) (AcM 2) son revelados aquellos que tenían Leptina o Vaspina circulantes y quedaron atrapados entre los dos anticuerpos monoclonales. Después de un período de incubación que permite la formación de un sándwich: AcM1 - leptina humana - AcM 2 – HRP, la microplaca se lava con el fin de eliminar el exceso no unido a la reacción. El anticuerpo marcado se mide a través de una reacción cromogénica con solución (TMB, El TMB es catalizado por la HRP para producir un producto de color azul. La reacción se detiene con la adición de la solución de parada que es H₂SO₄ lo que induce a que cambie el color a amarillo, y se realiza la lectura de la microplaca en la longitud de onda de 450 nm. La densidad óptica (D.O) del color es proporcional a la cantidad de la adipocina humana de la muestra capturada en la placa.

6.7.6.2. Cuantificación de adiponectina, resistina, Adipsina (MILLIPLEX® MAP, HADK1MAG61K03,)

Se basó en la tecnología Luminex xMAP®, la cual utiliza técnicas patentadas con las microesferas de diferentes grados de color con dos colorantes fluorescentes diferentes. A través de esas diferentes concentraciones precisas de estos colorantes, se pueden crear conjuntos o grupos de perlas de color distintivo de 500 microesferas de poliestireno de 5,6 µm o 80 microesferas magnéticas de 6,45 µm, cada una de las cuales está revestida con un anticuerpo de captura específico según la adipocina. Después de que un analito de una muestra de suero en el ensayo es capturado por la perla, se introduce un anticuerpo de detección biotinilado. Luego se incubaba la mezcla de reacción con un conjugado unido a estreptavidina-marcado con otro colorante como lo es la ficoeritrina, considerada la molécula reportera, para completar la reacción sobre la superficie de cada microesfera. Se utilizó el equipo Luminex 200™® el cual trabaja con base en citometría de flujo. No existen valores de referencia definidos, se utilizaron cortes canónicos basados en percentil 33 definidos previamente en el grupo de trabajo.

7. Resultados

Se analizaron dos grupos de individuos sanos, el primer grupo estuvo conformado por 124 individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide (AR) y el otro con 124 individuos sanos sin ninguna relación familiar con individuos con autoinmunidad como controles. Los datos fueron pareados por edad y sexo de tal forma que garantizan la comparabilidad de los resultados. A continuación, se describen las características demográficas y clínicas para cada uno de los grupos.

7.1. Demográficos de familiares en primer grado de pacientes con AR y controles

En el presente estudio se incluyeron 248 individuos, de los cuales 124 (50%) son familiares en primer grado de pacientes con AR y 124 (50%) eran controles sanos. La media de edad fue de 39,31 y 39,24 respectivamente para CTRL y. Se evaluó el hábito de tabaquismo en los individuos, los cuales se evidencio diferencias significativas en familiares AR en el consumo de cigarrillo mostrando que aquellos individuos sin relación con pacientes con artritis (CTRL) tiene mayores hábitos de fumar que aquellos con familiaridad con pacientes con AR 11,3% vs 4,8% ($p=0,046$) Adicionalmente, se tuvo en cuenta los valores de Índice de Masa Corporal (IMC) encontrando que los familiares AR tenían mayor presencia de sobrepeso que los CTRL (36,3% vs 27,4%) ($p=0.031$) **(Tabla 1).**

Tabla 1. *Variables sociodemográficas, comorbilidades, antecedentes de tabaquismo y valores de IMC de la población estudiada PREAR y CTRL n=248. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty*

		CTRL		PREAR		valor p
		Media	Desviación estándar	Media	Desviación estándar	
Edad		39,31	12,30	39,24	12,22	
		%	Recuento	%	Recuento	
Sexo	Masculino	29,0%	36	29,0%	36	0,888
	Femenino	71,0%	88	71,0%	88	
Condición	CTRL	100,0%	124	0,0%	0	1
	FamiliaresAR	0,0%	0	100,0%	124	
Comorbilidad	Presencia	32,3%	40	41,1%	51	0,147
Fuma actual	Ausencia	88,7%	110	95,2%	118	0,046
	Presencia	11,3%	14	4,8%	6	
Fumó	Presencia	32,3%	40	26,6%	33	0,329
Fumador pasivo	Presencia	13,7%	17	14,5%	18	0,855
Economía	Hogar	11,3%	14	12,9%	16	-
	Independiente	1,6%	2	20,2%	25	
	Empleado	76,6%	95	55,6%	69	
	Pensionado	0,8%	1	4,8%	6	
	Estudiante	9,7%	12	6,5%	8	-
Vivienda	Propia	59,7%	74	57,3%	71	
	Arrendada	29,0%	36	21,8%	27	
	Común	9,7%	12	20,2%	25	
	Alojamiento	1,6%	2	0,8%	1	
Estado civil	Casado	41,9%	52	33,9%	42	-
	Soltero	33,9%	42	47,6%	59	

	Viudo	1,6%	2	4,0%	5	
	Unión libre	18,5%	23	10,5%	13	
	Separado	4,0%	5	4,0%	5	
Nivel de estudios	Primaria	7,3%	9	4,0%	5	-
	Bachillerato	18,5%	23	16,9%	21	
	Técnico	25,8%	32	16,9%	21	
	Universitario	48,4%	60	62,1%	77	
IMC	Normal	67,7%	84	58,9%	73	0,031
	Sobrepeso	27,4%	34	36,3%	45	
	Obesidad	4,8%	6	4,8%	6	

*** $p < 0.05$ significativo por prueba de Mc Nemar**

7.2. Características clínicas y serológicas de individuos familiares en primer grado de pacientes con AR

Se analizaron las variables clínicas en los familiaresAR, tales como el dolor articular y las articulaciones inflamadas, las cuales son características para el diagnóstico de la enfermedad. Se observa que las dos variables son estadísticamente significativas, donde el dolor articular tiene un valor $p=0.011$ presentándose en una proporción mayor en familiaresAR. En la variable de articulaciones inflamadas el mayor porcentaje no presentaba ninguna articulación inflamada, sin embargo, en el grupo consanguíneo se reporta una frecuencia mayor con un $p=0.0026$ (**Tabla 2**)

Tabla 2. Variables clínicas individuos familiares en primer grado de pacientes con artritis reumatoide, artritis reumatoide temprana. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	Control		AR		p
	Recuento	%	Recuento	%	
Dolor articular					
No	96	77.4%	77	62.1%	0.011*
Si	28	22.6%	47	37.9%	
Articulaciones inflamadas					
No	119	96.0%	105	84.7%	0.0026*
Si	5	4.0%	19	15.3%	

* $p < 0.05$ significativo por prueba de Mc Nemar

En cuanto a los marcadores serológicos encontramos diferencias en la presencia de anticuerpo antipéptido anti -CCP encontrando que los individuos familiaresAR presentan mayor presencia de anti-CCP 19.4% vs 6.5% ($p=0.0037$), no se evidenciaron diferencias significativas en ningún otro marcador serológico de inflamación o autoinmunidad sin embargo, podemos evidenciar que los individuos familiaresAR tienen mayor presencia de niveles **de PCR con niveles superiores a 3, y a 9mg/L asi como el FR>20. (Tabla 3)**

Tabla 3. *Marcadores serológicos de inflamación del grupo de individuos familiares en primer grado de pacientes con AR. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty*

	Control		PREAR		p
	Recuento	%	Recuento	%	
VSG mm/cm3					
≤20	103	83.1%	107	86.3%	0.6076
>20	21	16.9%	17	13.7%	
PCR					
≤ 3 mg/l normal	84	67.7%	77	62.1%	
3-9mm/l incrementado	28	22.6%	31	25.0%	
>9 mm/l positivo alto	12	9.7%	16	12.9%	
PCR>3 mg/l					
Menor de 3	84	67.7%	77	62.1%	0.4500
Mayor de 3	40	32.3%	47	37.9%	
PCR>9 mm/cm3					
Menor de 9	112	90.3%	108	87.1%	0.5572
Mayor de 9	12	9.7%	16	12.9%	
FR>20 IU/mL					
Menor de 20	121	97.6%	119	96.0%	0.7266
Mayor de 20	3	2.4%	5	4.0%	
FR>60 IU/mL					
Menor de 60	123	99.2%	123	99.2%	1.0000
Mayor de 60	1	0.8%	1	0.8%	
Anti-CCP IU/mL					
Menor de 20	116	93.5%	100	80.6%	0.0037*
Mayor de 20	8	6.5%	24	19.4%	

PCR>3: Proteína C reactiva con niveles superiores a 3 o a 9 mg/L, FR: factor reumatoide, anti

CCp: Anticuerpos anti péptido cíclico citrulinado, VSG: Velocidad de sedimentación globular

***p<0.05 significativo por prueba de Mc Nemar**

7.3. Niveles de adipocinas en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR y Controles

Las adipocinas se estratificaron de acuerdo con el percentil 33 como bajo, moderado y alto (**Tabla 4**). Se realizaron diferentes cortes a cada una de las adipocinas de acuerdo a los tertiles descritos anteriormente para realizar comparaciones entre los grupos, encontrando que los valores de resistina se encuentran en niveles moderados/altos en mayor frecuencia en individuos CTRL 75.0% vs 57.3% en familiaresAR ($p=0.0032$) (**Tabla 6**), al igual que la adiposina que se encuentran mayor frecuencia en niveles moderados/altos en CTRL 79.0% frente a 47.6% en familiaresAR ($p=0.0001$) (**Tabla 7**), mientras que la leptina se encuentra en mayor frecuencia en niveles moderados/altos en el grupo consanguíneo familiaresAR 50.8% vs 35.5% en CTRL ($p=0.0216$) (**Tabla 9**)

Tabla 4. Estratificación de adipocinas de acuerdo con el percentil 33 en individuos sanos. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	Tertil 1	Tertil 2	Tertil 3	Mediana
	nivel leve	nivel moderado	nivel alto	P50
Adiponectina (pg/ml)	0.001–28,303.75	28,303.76–41,753.2	>41,753.2	34,769.60
Leptina (ng/ml)	0.001–0.15	0.16–1.67	>1.67	0.18
IL-6 (pg/ml)	0.001–1.0	1.1–2.29	>2.29	1.0
Resistina (pg/ml)	0.001–16.83	16.84–65.69	>65.69	49.34
Adipsina (pg/ml)	0.001–3,076.9	3,076.9–8,729.5	>8,729.58	7,728.36
Vaspina (pg/ml)	0.001–68.80	68.81–1,273.1	>1,273.19	87.50

Tabla 5. Niveles séricos de Adiponectina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	Control		AR		<i>p</i>
	Recuento	%	Recuento	%	
Adiponectina (pg/ml)					
Leve/Moderado	82	66.1%	95	76.6%	0.0984
Alto	42	33.9%	29	23.4%	
Adiponectina					
Leve	39	31.5%	45	36.3%	0.4966
Moderado/Alto	85	68.5%	79	63.7%	
*<i>p</i><0.05 significativo por prueba de Mc Nemar					

Tabla 6. Niveles séricos de Resistina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	Control		AR		<i>p</i>
	Recuento	%	Recuento	%	
Resistina (pg/ml)					
Leve/Moderado	76	61.3%	87	70.2%	0.1925
Alto	48	38.7%	37	29.8%	
Resistina					
Leve	31	25.0%	53	42.7%	0.0032*
Moderado/Alto	93	75.0%	71	57.3%	
Resistina					
P50	64	51.6%	39	31.5%	0.0019*
*<i>p</i><0.05 significativo por prueba de Mc Nemar					

Tabla 7. Niveles séricos de Adipsina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	Control		AR		<i>p</i>
	Recuento	%	Recuento	%	
Adipsina (pg/ml)					
Leve/Moderado	80	64.5%	89	71.8%	0.2717
Alto	44	35.5%	35	28.2%	
Adipsina					
Leve vs	26	21.0%	65	52.4%	0.0001*
Moderado/Alto	98	79.0%	59	47.6%	
Adipsina					
P50	64	51.6%	39	31.5%	0.0015*
*<i>p</i><0.05 significativo por prueba de Mc Nemar					

Tabla 8. Niveles séricos de Vaspina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	Control		AR		<i>p</i>
	Recuento	%	Recuento	%	
Vaspina (pg/ml)					
Leve/Moderado	40	32.3%	35	28.2%	0.2668
Alto	13	10.5%	19	15.3%	
Vaspina					
Leve vs	19	15.3%	11	8.9%	0.1153
Moderado/Alto	34	27.4%	43	34.7%	
*<i>p</i><0.05 significativo por prueba de Mc Nemar					

Tabla 9. Niveles séricos de Leptina en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	Control		AR		<i>p</i>
	Recuento	%	Recuento	%	
Leptina (ng/ml)					
Leve/Moderado	65	52.4%	48	38.7%	0.0356*
Alto	15	12.1%	32	25.8%	
Leptina					
Leve vs	36	29.0%	17	13.7%	
Moderado/Alto	44	35.5%	63	50.8%	0.0216*
*<i>p</i><0.05 significativo por prueba de Mc Nemar					

Tabla 10. Niveles séricos de IL-6 en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR comparado con controles. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	Control		AR		<i>p</i>
	Recuento	%	Recuento	%	
IL-6 (pg/ml)					
Leve/Moderado	74	59.7%	65	52.4%	0.8506
Alto	24	19.4%	25	20.2%	
IL 6					
Leve	59	47.6%	50	40.3%	
Moderado/Alto	39	31.5%	40	32.3%	
IL 6					
P50	72	58.1%	50	40.3%	0.0094*
*<i>p</i><0.05 significativo por prueba de Mc Nemar					

7.4. Descripción de variables periodontales en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR y Controles

En cuanto a las variables periodontales en familiaresAR se observó que la frecuencia de EP entre los dos grupos fue similar (60.5% vs 55,6%, respectivamente) (**Tabla 6**). En cuanto a la presencia de *P. gingivalis* se encontró en mayor porcentaje (62.1% en los familiaresAR vs 42.7% en los CTRL (OR 2.14 95%IC: 1.25- 3.78 p=0.003). En cuanto a los anticuerpos anti *P. gingivalis* IgG1 e IgG2 se encontraron en mayor frecuencia en los controles que en familiaresAR (p= 0.003 y p= 0.001 respectivamente)

Tabla 11. Marcadores periodontales del grupo de individuos familiares en primer grado de pacientes con AR y CTRL. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

		DX				
		Ctrl		familiaresAR		
		Recuento	%	Recuento	%	
Enfermedad Periodontal	Ausencia	55	44,4%	49	39,5%	0,440
	Presencia	69	55,6%	75	60,5%	
Severidad	Ausencia	55	44,4%	49	39,5%	0,893
	Leve	17	13,7%	19	15,3%	
	Moderada	44	35,5%	47	37,9%	
	Severa	8	6,5%	9	7,3%	
<i>P. gingivalis</i>	Ausencia	71	57,3%	47	37,9%	0,002*
	Presencia	53	42,7%	77	62,1%	
<i>P. gingivalis</i> Log	Menor De 4	76	61,3%	71	57,3%	
	Mayor De 4	48	38,7%	53	42,7%	
Títulos Acs IgG1	Menor De 1/100	52	41,9%	80	64,5%	0,518
	Mayor De 1/100	72	58,1%	44	35,5%	
Títulos Acs IgG1	Menor De 1/400	85	68,5%	109	87,9%	

	Mayor De 1/400	39	31,5%	15	12,1%	0,003*
Títulos Acs IgG2	Menor De 1/100	43	34,7%	91	73,4%	
	Mayor De 1/100	81	65,3%	33	26,6%	0,001*
Títulos Acs IgG2	Menor De 1/400	86	69,4%	115	92,7%	0,001*
	Mayor De 1/400	38	30,6%	9	7,3%	

***p<0.05 significativo por prueba de Mc Nemar**

Los niveles alto de leptina en el grupo familiaresAR se asoció con IMC mayores a 25 ($p = 0,041$), mayor presencia de *P. gingivalis* ($p=0.002$) y también se asoció con mayor presencia de articulaciones dolorosas y articulaciones inflamadas ($p=0,001$) (Tabla 7)

Tabla 12. Asociación de variables periodontales y reumatológicas con Leptina en el grupo de individuos familiares en primer grado de pacientes con AR (PREAR). Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

		Leptina				Valor p
		Leve		Moderado/alto		
		n	%	n	%	
IMC	sobrepeso/obesidad	7	41,2%	23	36,5%	0,041*
Articulaciones dolorosas	Presencia	5	29,4%	26	41,3%	0,001*
Articulaciones inflamadas	Presencia	4	23,5%	11	17,5%	0,001*
Enfermedad Periodontal	Presencia	8	47,1%	36	57,1%	0,032*
<i>P. gingivalis</i>	Presencia	7	41,2%	38	60,3%	0,002*

*** p<0.05 ** p< 0.01 significativo por prueba de Chi² o prueba de Fisher**

Por otro lado, se encontró que inflamación gingival y el número de sitios con profundidad de bolsas ≥ 4 mm están en mayor medida en los sujetos familiaresAR ($p= 0,001$ y $0,034$ respectivamente) (**Tabla 8**)

Tabla 13. *Variables Periodontales en PREAR comparado con Controles. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty*

	CTRL	PREAR	VALOR p
Índice de placa ▲	0.45 (0.30-0.70)	0.48 (0.29-0.78)	0.689
Inflamación gingival ▲	0.26 (0.13-0.47)	0.44 (0.26-0.68)	0.001*
Sangrado al sondaje ▲	0.35(0.22-0.51)	0.25 (0.09-0.70)	0.121
Sitios con profundidad de bolsas ≥ 4 ▲	1.72 (0.00-6.90)	2.38 (0.68-9.48)	0.034*
Promedio de nivel de inserción ▲	0.87 (0.32-1.48)	0.78 (0.32-1.39)	0.676
Profundidad de bolsa–Total Boca ▲	2.14 (1.92-2.37)	2.09 (1.95-2.36)	0.921

▲=mediana (RIQ). * $p<0.05$ significativo por prueba de signos de Wilcoxon

7.5. Análisis presencia de adipocinas en individuos familiares en primer grado de pacientes con AR

Con el fin de establecer la asociación de la presencia de adipocinas y la condición de familiaresAR, se desarrolló un modelo de regresión logística condicional ajustado a sexo e IMC, encontrando que la leptina se asocia con la condición de familiarAR (OR:10.133 $_{95\%CI}$ **1.379-74.41**; $p=0.023$) (**Tabla 9**)

Tabla 14. Regresión logística condicional adipocinas frente a la condición de ser familiar de pacientes con AR. Análisis Estadístico realizado por: Tamy Goretty

	MODELO AJUSTADO		
	OR	95%CI	Valor p
IMC >25	1.885435	0.500- 7.102	0.349
SEXO	1.885	0.414 - 5.192	0.553
Adiponectina (pg/ml)	0.387	0.0877- 1.707	0.210
Resistina (pg/ml)	0.918	0.213-3.9536	0.909
Adipsina (pg/ml)	0.128	0.020 – 0.783	0.026
Vaspina (pg/ml)	0.733	0.172 - 3.12	0.676
Leptina (ng/ml)	10.133	1.379-74.41	0.023
IL-6 (pg/ml)	1.083	0.265-4.420	0.911

8. Discusión

Se ha considerado de suma importancia estudiar el riesgo que pueden llegar a tener los familiares de pacientes diagnosticados con AR y los marcadores que puede ser como un factor de riesgo para determinar el inicio o la severidad de la enfermedad. Se han estudiado variables que desencadenan la respuesta de inflamación sistémica para determinar si influyen o no en la enfermedad. Se tomaron en cuenta las variables de IMC , tabaquismo, y enfermedad periodontal ya que cada una son condiciones con facultades inflamatorias y por esto, el consenso EULAR enfatiza la importancia de estudiar a los pacientes con riesgo de AR en etapas tempranas de la enfermedad para detectarlos de manera inicial y generar intervenciones de prevención (17).

A partir del análisis se reportó una asociación entre la obesidad/sobrepeso y marcadores tempranos de ARt (Artritis reumatoide temprana), concluyendo que la presencia simultánea de niveles altos de más de una adipocina en pacientes con ARt(64), se asoció un mayor IMC y presentar una mayor actividad de la enfermedad. En la literatura se ha reportado que se evidencia la presencia y la severidad de la EP en las primeras etapas del proceso de la enfermedad de la AR, lo que proporciona más evidencia de un evento causal o permisivo(65).

El presente estudio comparó 124 familiares en primer grado de consanguinidad de pacientes con AR y el otro con 124 individuos sanos sin ninguna relación familiar como controles sanos, pareados por edad y sexo. Se evaluó si los niveles séricos de adipocinas (adiponectina, resistina, adiposina, vaspina, leptina e IL6) e indicadores clínicos de compromiso periodontal, están asociados como factor de riesgo de desarrollar AR en familiares. Se tuvieron en cuenta para el desarrollo de la investigación, adicionalmente, unas variables que son conocidas por influir en los niveles séricos de marcadores inflamatorios como el IMC y el hábito del tabaquismo. Sin embargo, el consumo de tabaco en el grupo estudiado no tuvo mayor influencia, ya que un alto porcentaje de individuos no tenían este hábito.

La incidencia de la obesidad y sus trastornos asociados está aumentando notablemente a nivel mundial. El efecto inflamatorio del tejido adiposo predispone a las personas a un mayor riesgo de desarrollar muchas enfermedades, como aterosclerosis, diabetes, enfermedad del hígado graso no alcohólico, ciertos cánceres y algunos trastornos inmunomediados, como el asma(66). De la misma manera, esta reacción inflamatoria ha generado interés en la relación entre la obesidad y enfermedades inflamatorias crónicas como la AR y la periodontitis.(67). En el presente estudio se evaluó el IMC, encontrándose mayor porcentaje de individuos familiares tenían mayor presencia de sobrepeso (36.3%), que los CTRL (36,3% vs 27,4%) ($p=0.031$). Se encontró que la obesidad en la AR preveía en el 18-31% de los pacientes, en general ligeramente más alta que en la población general. Se ha observado una condición de sobrepeso en más del 60% de los pacientes con AR(68). Lo anterior es congruente porque la obesidad es conocida por aumentar la incidencia de varias enfermedades por la vía de la inflamación sistémica; esta se encuentra asociada con una respuesta inflamatoria crónica caracterizada por una producción anormal de citocinas, incrementando la síntesis de reactantes de la fase aguda y la activación de las vías de señalización proinflamatoria (69). Los métodos que permiten la caracterización de la proporción de grasa corporal demostraron que los pacientes con AR tienen un IMC >25 vs los controles sanos(70); Además, los pacientes masculinos con AR tenían más grasa visceral y las mujeres más grasa subcutánea en comparación con los controles con IMC y circunferencia de cintura similares, por lo que se han propuesto valores de corte de IMC más bajos para mejorar el valor predictivo de este indicador en la AR(71).

La asociación entre la obesidad y la inflamación sistémica se encuentra directamente relacionada con los cambios en las células inmunes residentes en el del tejido adiposo, en donde la activación de las vías inflamatorias en los leucocitos contribuye a la patogénesis de las enfermedades asociadas a la obesidad(72). El tejido adiposo es un órgano immunoendocrino que produce no solo hormonas sino también citocinas. La red de adipocinas está involucrada en la interacción entre tejido adiposo blanco (TAB), trastornos metabólicos y enfermedades inmunomediadas. Se ha demostrado que las adipocinas modulan varios aspectos de la inflamación, así como las respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas(73). Las adipocinas como la adiponectina

y la leptina son algunos ejemplos de sustancias altamente bioactivas con funciones inmunológicas que se encuentran en numerosas enfermedades inflamatorias crónicas(74) El papel de leptina podría considerarse el puente entre la tolerancia inmune, la función metabólica y la autoinmunidad y sugiere la posibilidad de utilizar los niveles circulantes de adipocinas como posibles biomarcadores de la actividad de la enfermedad y el estado funcional en la etapa inicial de la AR (36).

Se tuvo en cuenta la sintomatología primaria de la AR en estos individuos sistémicamente sanos, pero con riesgo genético de desarrollo de autoinmunidad. El dolor y la inflamación articular son signos patognomónicos del desarrollo de la AR(75). Era necesario evaluarlas tanto en familiaresAR como en controles, lo cual en el estudio se evidencia con un valor de $p=0.011$ el dolor articular donde la mayor cantidad de individuos que presentan dolor articular son familiaresAR. Igualmente, para la variable de articulaciones inflamadas $p=0.0026$. Se determinó la necesidad de dilucidar las complejas interacciones entre los sistemas inmunitarios innato y adaptativo, que desempeñan un papel fundamental en el desarrollo y la perpetuación de la sinovitis en la AR para deducir el “tiempo” en el que se manifiesta la enfermedad(76).

Por otro lado, la presencia de autoanticuerpos, como el FR y los anticuerpos anti-CCP, en el suero de individuos asintomáticos hasta 10 años antes del inicio de la AR sugiere que el inicio de la patología representa la culminación de una enfermedad, un continuo que, al cruzar un umbral, finalmente desencadena sintomatología clínica y daño tisular(75) Se pueden distinguir cinco fases de la enfermedad: riesgo genético o predeterminado, inflamación asintomática, sinovitis indiferenciada, AR clásica y evolución de inflamación crónica y autoinmunidad(77). La AR se desarrolla predominantemente en individuos genéticamente predispuestos sujetos a un conjunto poco claro de eventos de la vida. La AR es una enfermedad heterogénea; Existe mucha variación en los factores predisponentes y la presentación clínica entre individuos y poblaciones. En un estudio revisaron la cuestión de por qué ciertas personas están predispuestas a desarrollar AR. Se enfocaron en la primera etapa discutiendo factores predeterminados (tanto genéticos como epigenéticos) así como factores estocásticos, como las influencias ambientales(75). Describieron

los mecanismos inmunológicos preclínicos que caracterizan la segunda fase del desarrollo patológico y delinearon los procesos biológicos que están involucrados en la transición temprana a la enfermedad clínica(77).

Ya se ha planteado que la obesidad, la presencia de anticuerpos anti-CCP y enfermedad periodontal, pueden considerarse condiciones relevantes que están asociadas como un factor de riesgo para el desarrollo de AR en individuos de primer grado de consanguinidad(74).

Es así que, al evaluar marcadores serológicos, se observó que los individuos familiaresAR presentan mayor presencia de anti-CCP 19.4% vs 6.5% ($p=0.0037$). Al ser dos grupos de individuos sanos, el alto nivel de este marcador en los familiaresAR indica que no es necesario tener manifestaciones clínicas de la enfermedad para que exista un alto riesgo de presentarla. La detección de péptidos anticíclicos citrulinados (CCP) es uno de los últimos marcadores que se han introducido para el diagnóstico de AR(78). Se observan cambios en una variedad de marcadores inmunológicos antes del inicio de la enfermedad clínica en el suero de pacientes que desarrollan AR, incluidos anti-CCP, anticuerpos anti-proteína carbamilada (anti-CarP), RF y citoquinas(75).

Los anti-CCP están fuertemente asociados con los alelos HLADRB1. La citrulinación de proteínas no es específica de la articulación o la AR, sino que se produce como consecuencia de la inflamación en muchos tejidos y en muchos tipos diferentes de estrés tisular(79). Sin embargo, los anti-CCP son mucho más específicos de la AR. La expresión de anti-CCP puede preceder a la aparición clínica de la AR por 10 años o más y demostrar aumentos en el título y la avidéz, diseminación de epítomos y cambios tanto en el repertorio como en el uso de isotipos a medida que se acerca el inicio de la enfermedad. Además de ser un marcador de AR, los anti-CCP se han implicado mecánicamente en el inicio, o posiblemente la perpetuación, de la enfermedad(75). La presencia de anti-CCP o FR antes del inicio clínico de la AR sugiere que estos anticuerpos podrían iniciar la inflamación sinovial(80); Pueden preverse tres formas de hacerlo. En primer lugar, el depósito de inmunocomplejos preformados de la circulación a lo largo de la membrana basal de las vénulas poscapilares sinoviales podría inducir vasculitis. En segundo lugar, los complejos

inmunitarios preformados o los autoanticuerpos de la circulación pueden entrar directamente en la membrana sinovial, con o sin vasculitis asociada. Finalmente, los autoanticuerpos pueden ingresar al espacio sinovial y unirse directamente a antígenos específicos en el cartílago(81).

La mayoría de los estudios que investigan la relación de la enfermedad periodontal (EP) y la AR se han centrado en las vías inflamatorias compartidas, pocos han examinado las asociaciones de la AR con las infecciones bacterianas que inician la EP. Se ha informado que la *P. gingival* es una procariota conocida que expresa peptidilarginina deiminasa (PAD), una enzima responsable de la modificación postraducciona de arginina en citrulina(82). Existe un interés creciente en una mejor comprensión de la citrulinación en la enfermedad periodontal y la función de PAD de la *P. gingival* -PPAD en este proceso. Aunque PPAD puede citrulinar sus propias proteínas que reaccionan de forma cruzada con homólogos de péptidos citrulinados humanos, en el caso de enolasa, no está claro si la citrulinación es necesaria para la inducción de AR(65). Las descripciones de la citrulinación ubicua en la mucosa oral normal y su aumento de la EP con PAD-2 y PAD-4 expresadas concomitantemente, demuestran la probable participación de la inflamación microambiental en los eventos citrulinantes (65). Además, la citrulinación de proteínas puede tener otras consecuencias funcionales y reguladoras a través de la activación e inactivación de proteínas (65). Por esto en el estudio se analizó presencia de ésta en ambos grupos.

Finalmente, en esta triada previamente planteada se incluyó la presencia de *P.gingivalis* se encontró en mayor porcentaje en los familiaresAR (62.1%) vs el 42.7% de los CTRL (p=0.003).

En comparación con los controles sanos, la EP es más frecuente en los pacientes con AR, tanto en aquellos con enfermedad de nueva aparición como en aquellos con enfermedad de larga duración, incluso cuando se tienen en cuenta posibles factores de confusión como el tabaquismo(83). Los anti-CCP se asocian con un curso más agresivo y pueden detectarse antes del inicio de la enfermedad clínica, lo que sugiere un papel en la patogénesis de la AR(84). La *P. gingivalis*, a través de su enzima PAD, puede citrulinar proteínas del huésped o bacterianas, alterando su antigenicidad y desencadenando autoinmunidad y AR en individuos predispuestos(85).

Desde la década de 1950, ha habido una asociación bien documentada entre la AR y la EP(86). Se dice que La *P. gingivalis*, el principal agente etiológico de la periodontitis, para expresar una PAD, una enzima responsable de la citrulinación postraduccional de los residuos de arginina, es la responsable de esta asociación(86). Esta actividad enzimática expone potencialmente a los individuos afectados a antígenos citrulinados y, en el contexto de los antecedentes inmunogenéticos apropiados, predispondría al desarrollo de ACPA. Se sabe que los ACPA son relativamente específicos para la AR, preceden al inicio de la enfermedad y están potencialmente involucrados en la patogenia de la sinovitis de la AR(84). En el estudio de Hitchon et al, (2010), presentaron datos de una cohorte única de familiares libres de enfermedad de pacientes con AR que tienen una alta prevalencia de ACPA y abordaron una pregunta clave, si las respuestas de anticuerpos a *P. gingivalis* están asociadas con ACPA fuera del contexto de la AR. Los datos indican claramente que sí(87). Los hallazgos son consistentes con la hipótesis de que las respuestas inmunes a *P. gingivalis* están involucradas de alguna manera con la ruptura de la tolerancia inmune a los antígenos citrulinados, como lo indica la presencia de ACPA. Dado que *P. gingivalis* expresa PAD y potencialmente puede citrulinar péptidos in vivo, las respuestas inmunes del huésped a tales neoantígenos pueden desencadenar autoinmunidad a antígenos citrulinados endógenos a través de mecanismos como el mimetismo molecular y la propagación de epítomos(87). Aunque la *P. gingivalis* puede estar involucrada en la patogénesis de la AR a través de la citrulinación, puede haber otros mecanismos importantes por los cuales la *P. gingivalis* contribuye a la actividad de la enfermedad en la AR. Por ejemplo, es más probable que el organismo sesgue la reactividad de las células T CD4 + a un fenotipo Th17 (88), una respuesta que se ha relacionado con la autoinmunidad(89), respaldando así nuestros resultados a la evaluación de los anticuerpos anti *P.gingivalis* IgG1 e IgG2 se encontraron en mayor frecuencia en los controles que en familiaresAR ($p= 0.003$ y $p= 0.001$ respectivamente).

Estudios anteriores han demostrado una mayor frecuencia de respuestas de anticuerpos a *P. gingivalis* en pacientes con AR en comparación con controles sanos (90). Algunos investigadores han observado una asociación de los anticuerpos *P. gingivalis*, con los niveles de anticuerpos anti-CCP, pero no con los valores de FR(91), mientras que otros encontraron una correlación de los

anticuerpos de inmunoglobulina G (IgG) de *P. gingivalis* con los niveles de FR, pero no con los valores de los anti-CCP(92). Los pacientes con AR temprana son un grupo importante para estudiar porque pueden beneficiarse más de las intervenciones de tratamiento para la *P. gingivalis* y la EP. Hubo un estudio donde examinaron los anticuerpos *P. gingivalis* en pacientes con AR temprana(93), no encontró diferencias significativas en los anticuerpos contra un antígeno *P. gingivalis* específico) en pacientes con AR crónica o de nueva aparición en comparación con los participantes de control. Sin embargo, aún no se han informado respuestas de anticuerpos a preparaciones de antígeno *P. gingivalis* completo en pacientes con AR temprana. Los pacientes con AR *P. gingivalis* negativo tenían más probabilidades de ser fumadores, lo que sugiere que el pulmón puede haber sido el sitio de la citrulinación de proteínas en estos pacientes y no la encía(32).

La EP crónica representa otro sitio de inflamación tisular, además del pulmón y la membrana sinovial, donde podría inducirse la citrulinación local de proteínas(29,94). La periodontitis crónica está asociada con AR y la *P. gingivalis* expresa una forma de PAD que puede citrulinar proteínas. Sin embargo, la PAD de *P. gingivalis* citrulina péptidos en los residuos de arginina carboxi-terminales, mientras que las PAD humanas citrulinan las argininas internas, creando así epítomos reconocidos por las anti-CCP(85). Sin embargo, un subconjunto de anti-CCP en pacientes con AR que se une a α -enolasa humana citrulinada exhibe reactividad cruzada con una secuencia conservada en la enolasa de *P. gingivalis* citrulinada(94). La periodontitis crónica se asocia con algunos de los alelos HLADRB1 vinculados a la AR, así como a con presencia de FR, como se observa en muchas enfermedades inflamatorias crónicas (la inflamación crónica por múltiples causas puede inducir FR y no implica el desarrollo de AR)(95).

Por otro lado, la presencia de EP en ambos grupos (familiaresAR y CRTL) fue similar, sin embargo, al analizar las variables clínicas de manera individual la inflamación gingival y el número de sitios con profundidad de bolsas ≥ 4 están en mayor medida en los sujetos familiaresAR ($p= 0,001$ y $0,034$ respectivamente) lo que puede llegar a indicar que ser individuos con predisposición genética puede aumentar la probabilidad a desarrollar EP. En un estudio donde evaluaron

individuos familiaresAR, Bello-Gualtero et al (2016), tuvieron una muestra de 119 individuos El grupo de pre-AR mostró índices periodontales más altos que el grupo de control; la inflamación gingival ($p = 0.012$) y sangrado al sondaje ($p = 0.032$) fueron significativamente diferentes entre los grupos. Setenta y siete personas del grupo de pre-AR presentaban periodontitis, de las cuales el 15,1% presentaba EP grave. Se observaron diferencias significativas entre los grupos en términos de incidencia y severidad de periodontitis ($p = 0.015$). Estos resultados se asemejan bastante a los nuestros y refuerza la hipótesis de que el hecho de hacer parte del grupo familiaresAR se encuentran más elevados estos índices. Estos resultados apoyan la asociación epidemiológica previamente observada entre periodontitis y AR en adultos(96).

Ahora bien, la leptina es una proteína secretada por el tejido adiposo que regula el sentido de saciedad y el gasto energético, además, estimula la producción de otras citoquinas proinflamatorias(97). Los niveles considerados altos de leptina en el grupo familiaresAR se asoció con IMC mayor a 25 ($p = 0,041$), lo cual es de esperarse.

La leptina es producida principalmente por TAB y los niveles circulantes de leptina se correlacionan positivamente con la cantidad de tejido adiposo y el IMC (98). Sin embargo, la síntesis de leptina también está regulada por la acción de mediadores inflamatorios (99). La leptina generalmente se considera una adipocina proinflamatoria. De hecho, la leptina estimula la producción de citocinas proinflamatorias, como TNF- α e IL-6, y especies reactivas de oxígeno en monocitos cultivados(100). Además, induce la producción de quimiocinas CC por los macrófagos y altera el equilibrio Th1 / Th2 favoreciendo el fenotipo Th (101).

La leptina se ha asociado con AR(102). Sin embargo, existen observaciones contradictorias sobre los niveles circulantes de leptina en pacientes con AR, ya que algunos estudios sugirieron una correlación entre los niveles de leptina y la actividad de la enfermedad(103) , mientras que otros no detectaron cambios en los niveles circulantes de leptina (104); . La interferencia de tratamientos farmacológicos concomitantes podría ser responsable de estos resultados aparentemente contrastantes(105). En nuestro estudio, se asoció con mayor presencia de articulaciones dolorosas y articulaciones inflamadas ($p=0,001$). En el grupo de riesgo genético.

Aunque el diagnóstico periodontal no se asoció con niveles de ninguna adipocina, la presencia de *P. gingivalis* sí se asoció de manera significativa con mayores niveles de leptina ($p=0.002$). Estudios han demostrado asociaciones entre la severidad de la periodontitis y niveles circulantes de leptina (expresada a partir de los adipocitos) muestra una relación directa con la inflamación periodontal, lo que demuestra un papel protector en la enfermedad periodontal (106,107). Por otro lado la liberación de leptina es estimulada por el TNF- α , que aumenta en los pacientes con Periodontitis crónica (PC) en comparación con aquellos con el periodonto sano (108). En estudios previos, se han estudiado en sujetos obesos y no obesos con PC, y el efecto estimulante comparable del TNF- α sobre la leptina podría haber resultado en niveles similares en sujetos obesos y no obesos con PC. Por lo tanto, se ha planteado la hipótesis de que la inflamación periodontal puede tener una mayor influencia en los niveles de citocinas del fluido crevicular gingival (incluida la leptina) en lugar del aumento de la carga inflamatoria sistémica debido a la obesidad(109).

En cuanto a las demás adipocinas, en el estudio los valores de resistina se encuentran en niveles moderados/altos en mayor frecuencia en individuos CTRL 75.0% vs 57.3% en familiaresAR ($p=0.0032$), al igual que la adiposina que se encuentran mayor frecuencia de niveles moderados/altos en CTRL 79.0% frente a un 47.6% en familiaresAR ($p=0.0001$).

La resistina es una proteína rica en cisteína, compuesta por 108 aminoácidos, denominada MSR (moléculas similares a la resistina), también conocida como FIZZ 332(73). En humanos, se origina a partir de monocitos y macrófagos circulantes(110). Inicialmente se relacionó a la resistencia a la insulina en la obesidad y algunas enfermedades cardiovasculares (ECV), pero ahora también se considera un vínculo entre la obesidad y la inflamación(111). Se ha encontrado resistina en áreas de inflamación y parece estar mediada por IL-6 y TNF α (112).

Se ha estudiado si existe un papel de la resistina en la patogénesis de la AR mediante la investigación de las posibles correlaciones entre la concentración de resistina en suero y líquido sinovial con la actividad de la enfermedad y el daño articular radiográfico. Los resultados de los autores apoyaron la hipótesis de que la resistina está involucrada en la patogénesis de la AR y sugirieron que la resistina sérica es un buen marcador de pronóstico de la enfermedad en

pacientes con AR(113). Compararon los niveles de resistina sérica de pacientes con AR y sujetos de control sanos. Los autores encontraron que el nivel de resistina en suero no difirió entre pacientes y controles, pero observaron que la resistina sérica se asoció positivamente con los niveles de PCR en pacientes con AR, lo que sugiere una acción proinflamatoria de esta citocina(114).

Sin embargo, algunos autores no mostraron asociaciones significativas entre la resistina sérica ni diferencias entre los niveles de resistina sérica y del líquido sinovial entre los pacientes con AR y los controles(115). En otro reporte, después de estudiar los niveles de resistina en pacientes con AR, no encontraron diferencias significativas en los niveles de resistina entre pacientes con AR y controles(116). Por esto, existe un papel importante de las adipocinas en la patogenia de procesos inflamatorios. La acción proinflamatoria de la resistina se observó en la mayoría de los estudios de pacientes con AR, lo que sugiere que esta adipocina es un buen marcador para evaluar la progresión de esta enfermedad(114).

La adiponina, también denominada factor de complemento D, en ratones, es una de las adipocinas primero descritas(117). La adiponina es un miembro de la familia de las serina proteasas que se encuentra en los adipocitos 3T3(118). La adiponina mantiene la homeostasis del tejido adiposo y aumenta la secreción de insulina en respuesta a la glucosa. Además, cataliza la producción de C3a (una forma activa del componente 3, C3) al controlar la vía alternativa del complemento, lo que provoca un aumento en la secreción de insulina del páncreas(119).

La adiponina es importante en la formación del complejo de ataque de membrana C5-C9 y en la generación de diversas moléculas de señalización, que comprenden las anafilatoxinas, complemento 3a (C3a) y C5a(119). En la síntesis, estas moléculas de señalización, primero el factor B del complemento es escindido por Adiponina y estas catalizan la formación de C3 convertasa y conduce a la cascada de hidrólisis que produce diferentes fragmentos del complemento incluyendo C3a, C3b, C5a y C5b(120).

Adicionalmente, es importante recalcar que el tejido adiposo tiene un papel crítico en la patogénesis de la fase efectora de la destrucción articular inflamatoria al producir adiponina, adipocina que se encuentra disminuida en ratones y humanos obesos(121). Esta conclusión es

consistente con la resistencia a la AR que muestran los ratones con obesidad inducida genéticamente con escasez de adiposina(122).

En línea con lo anterior, se evidencia que la adiposina tiene un posible vínculo con la obesidad, la lipodistrofia y la AR, debido a que este es el único componente del complemento producido casi exclusivamente por el tejido adiposo en la sangre y a que los niveles circulantes de esta adipocina caen drásticamente con el aumento de peso(123,124). Además, un ratón sin grasa es incapaz de activar el complemento a través de la vía alternativa (125). Por tanto, la vía alternativa funciona como un poderoso circuito de retroalimentación. Está involucrado en la patogenia de muchas enfermedades, lo que lo convierte en un candidato terapéutico atractivo(121).

Se ha evidenciado que el agotamiento de la adiposina previene la acumulación de neutrófilos en las articulaciones, lo que indica que la grasa regula los neutrófilos a través de una vía dependiente de la adiposina(44). Los neutrófilos activados también desencadenan la vía alternativa del complemento(126), lo que sugiere que la diafonía entre los neutrófilos y la activación del complemento dependiente de adiposina(121).

Debido a que la adiposina es una proteína relativamente pequeña y se requiere para la activación y amplificación de vías alternativas eficientes, es un objetivo atractivo para la intervención farmacéutica(121).

9. Referencias bibliográficas

1. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum.* 2000;43(1):30–7.
2. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988;31(3):315–24.
3. NIENHUIS RL, MANDEMA E. A NEW SERUM FACTOR IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS; THE ANTIPERINUCLEAR FACTOR. *Ann Rheum Dis.* 1964;23:302–5.
4. Nakayama-Hamada M, Suzuki A, Kubota K, Takazawa T, Ohsaka M, Kawaida R, et al. Comparison of enzymatic properties between hPADI2 and hPADI4. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;327(1):192–200.
5. Vossenaar ER, Zendman AJW, van Venrooij WJ, Pruijn GJM. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. *BioEssays.* 2003;25(11):1106–18.
6. Vossenaar ER, Radstake TRD, van der Heijden A, van Mansum MAM, Dieteren C, de Rooij D-J, et al. Expression and activity of citrullinating peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(4):373–81.
7. Kinloch A, Lundberg K, Wait R, Wegner N, Lim NH, Zendman AJW, et al. Synovial fluid is a site of citrullination of autoantigens in inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 2008;58(8):2287–95.
8. Borders CL, Broadwater JA, Bekeny PA, Salmon JE, Lee AS, Eldridge AM, et al. A structural role for arginine in proteins: multiple hydrogen bonds to backbone carbonyl oxygens. *Protein Sci.* 1994;3(4):541–8.
9. Tarcsa E, Marekov LN, Mei G, Melino G, Lee SC, Steinert PM. Protein unfolding by peptidylarginine deiminase. Substrate specificity and structural relationships of the natural substrates trichohyalin and filaggrin. *J Biol Chem.* 1996;271(48):30709–16.

10. Lundberg K, Nijenhuis S, Vossenaar ER, Palmblad K, van Venrooij WJ, Klareskog L, et al. Citrullinated proteins have increased immunogenicity and arthritogenicity and their presence in arthritic joints correlates with disease severity. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(3):R458-67.
11. Aggarwal R, Liao K, Nair R, Ringold S, Costenbänder KH. Anti-citrullinated peptide antibody assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2009;61(11).
12. Laugisch O, Wong A, Sroka A, Kantyka T, Koziel J, Neuhaus K, et al. Citrullination in the periodontium—a possible link between periodontitis and rheumatoid arthritis. *Clin Oral Investig*. 2016;20(4):675–83.
13. Sugiyama D, Nishimura K, Tamaki K, Tsuji G, Nakazawa T, Morinobu A, et al. Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):70–81.
14. Voigt LF, Koepsell TD, Nelson JL, Dugowson CE, Daling JR. Smoking, obesity, alcohol consumption, and the risk of rheumatoid arthritis. *Epidemiology*. 1994;5(5):525–32.
15. Aho K, Heliövaara M, Maatela J, Tuomi T, Palosuo T. Rheumatoid factors antedating clinical rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 1991;18(9):1282–4.
16. Rantapää-Dahlqvist S, de Jong BAW, Berglin E, Hallmans G, Wadell G, Stenlund H, et al. Antibodies against cyclic citrullinated peptide and IgA rheumatoid factor predict the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(10):2741–9.
17. Gerlag DM, Raza K, van Baarsen LGM, Brouwer E, Buckley CD, Burmester GR, et al. EULAR recommendations for terminology and research in individuals at risk of rheumatoid arthritis: report from the Study Group for Risk Factors for Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2012;71(5):638–41.
18. Frisell T, Saevarsdóttir S, Askling J. Family history of rheumatoid arthritis: an old concept with new developments. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(6):335–43.
19. Frisell T, Holmqvist M, Källberg H, Klareskog L, Alfredsson L, Askling J. Familial risks and

- heritability of rheumatoid arthritis: role of rheumatoid factor/anti-citrullinated protein antibody status, number and type of affected relatives, sex, and age. *Arthritis Rheum.* 2013;65(11):2773–82.
20. van der Woude D, Houwing-Duistermaat JJ, Toes REM, Huizinga TWJ, Thomson W, Worthington J, et al. Quantitative heritability of anti-citrullinated protein antibody-positive and anti-citrullinated protein antibody-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2009;60(4):916–23.
21. Hill JA, Southwood S, Sette A, Jevnikar AM, Bell DA, Cairns E. Cutting edge: the conversion of arginine to citrulline allows for a high-affinity peptide interaction with the rheumatoid arthritis-associated HLA-DRB1*0401 MHC class II molecule. *J Immunol.* 2003;171(2):538–41.
22. Bax M, van Heemst J, Huizinga TWJ, Toes REM. Genetics of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Immunogenetics.* 2011;63(8):459–66.
23. Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1987;30(11):1205–13.
24. Mourad J, Monem F. Associação do alelo HLA-DRB1 com suscetibilidade a artrite reumatoide e gravidade da doença na Síria Mourad, J., & Monem, F. (2013). Associação do alelo HLA-DRB1 com suscetibilidade a artrite reumatoide e gravidade da doença na Síria. *Revista Brasileira de. Rev Bras Reumatol.* 2013;53(1):51–6.
25. Messemaker TC, Huizinga TW, Kurreeman F. Immunogenetics of rheumatoid arthritis: Understanding functional implications. *J Autoimmun.* 2015;64:74–81.
26. Plenge RM, Padyukov L, Remmers EF, Purcell S, Lee AT, Karlson EW, et al. Replication of putative candidate-gene associations with rheumatoid arthritis in >4,000 samples from North America and Sweden: association of susceptibility with PTPN22, CTLA4, and PADI4. *Am J Hum Genet.* 2005;77(6):1044–60.
27. Romero-Sanchez C, C R, P S-M, AM M, GI L, S G-Q, et al. Is the Treatment with Biological

or Non-biological DMARDS a Modifier of Periodontal Condition in Patients with Rheumatoid Arthritis? *Curr Rheumatol Rev.* 2017;13(2).

28. Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I. *Treponema socranskii*, *Treponema denticola*, and *Porphyromonas gingivalis* Are Associated With Severity of Periodontal Tissue Destruction. *J Periodontol.* 2001;72(10):1354–63.

29. de Pablo P, Chapple ILC, Buckley CD, Dietrich T. Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5(4):218–24.

30. McGraw WT, Potempa J, Farley D, Travis J. Purification, characterization, and sequence analysis of a potential virulence factor from *Porphyromonas gingivalis*, peptidylarginine deiminase. *Infect Immun.* 1999;67(7):3248–56.

31. Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. *Clin Microbiol Infect.* 2007;13 Suppl 4:3–10.

32. Arvikar SL, Collier DS, Fisher MC, Unizony S, Cohen GL, McHugh G, et al. Clinical correlations with *Porphyromonas gingivalis* antibody responses in patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2013;15(5):R109.

33. Doherty GM, Jensen JC, Alexander HR, Buresh CM, Norton JA. Pentoxifylline suppression of tumor necrosis factor gene transcription. *Surgery.* 1991;110(2):192–8.

34. Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM. Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol.* 2001;72(6):779–87.

35. Bello-Gualtero JM, Lafaurie GI, Hoyos LX, Castillo DM, De-Avila J, Munevar JC, et al. Periodontal Disease in Individuals With a Genetic Risk of Developing Arthritis and Early Rheumatoid Arthritis: A Cross-Sectional Study. *J Periodontol.* 2016;87(4):346–56.

36. Rodríguez J, Lafaurie GI, Bautista-Molano W, Chila-Moreno L, Bello-Gualtero JM, Romero-Sánchez C. Adipokines and periodontal markers as risk indicators of early rheumatoid arthritis: a cross-sectional study. *Clin Oral Investig.* 2021;25(4):1685–95.

37. Gesta S, Tseng Y-H, Kahn CR. Developmental Origin of Fat: Tracking Obesity to Its Source.

Cell. 2007;131(2):242–56.

38. Canello R, Clément K. Review article: Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2006;113(10):1141–7.
39. Lafontan M, Berlan M. Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? *Trends Pharmacol Sci.* 2003;24(6):276–83.
40. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 2004;84(1):277–359.
41. Robidoux J, Martin TL, Collins S. Beta-adrenergic receptors and regulation of energy expenditure: a family affair. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:297–323.
42. Lafontan M, Berlan M. Fat cell adrenergic receptors and the control of white and brown fat cell function. *J Lipid Res.* 1993;34(7):1057–91.
43. Tiraby C, Tavernier G, Lefort C, Larrouy D, Bouillaud F, Ricquier D, et al. Acquisition of brown fat cell features by human white adipocytes. *J Biol Chem.* 2003;278(35):33370–6.
44. Redinger RN. Fat storage and the biology of energy expenditure. *Transl Res.* 2009;154(2):52–60.
45. Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T, et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med.* 2009;360(15):1518–25.
46. Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE. Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. *Dig Dis Sci.* 2009;54(9):1847–56.
47. Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino J, Gualillo O. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2007;3(12):716–24.
48. Lago F, Gómez R, Gómez-Reino JJ, Dieguez C, Gualillo O. Adipokines as novel modulators of lipid metabolism. *Trends Biochem Sci.* 2009;34(10):500–10.
49. Ghanim H, Mohanty P, Deopurkar R, Sia CL, Korzeniewski K, Abuaysheh S, et al. Acute

modulation of toll-like receptors by insulin. *Diabetes Care*. 2008;31(9):1827–31.

50. Cnop M. Fatty acids and glucolipototoxicity in the pathogenesis of Type 2 diabetes. *Biochem Soc Trans*. 2008;36(Pt 3):348–52.

51. Sánchez-Muñoz F, García-Macedo R, Alarcón-Aguilar F, Cruz M. [Adipocitokines, adipose tissue and its relationship with immune system cells]. *Gac Med Mex*. 141(6):505–12.

52. Zhang J, Wu Y, Zhang Y, Leroith D, Bernlohr DA, Chen X. The role of lipocalin 2 in the regulation of inflammation in adipocytes and macrophages. *Mol Endocrinol*. 2008;22(6):1416–26.

53. Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115(5):1111–9.

54. Beck JD, Offenbacher S. Systemic effects of periodontitis: epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol*. 2005;76(11 Suppl):2089–100.

55. Koletsky S. Obese spontaneously hypertensive rats—a model for study of atherosclerosis. *Exp Mol Pathol*. 1973;19(1):53–60.

56. Okamoto Y, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Libby P. Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)*. 2006;110(3):267–78.

57. Loos BG. Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol*. 2005;76(11 Suppl):2106–15.

58. Nishimura F, Iwamoto Y, Mineshiba J, Shimizu A, Soga Y, Murayama Y. Periodontal disease and diabetes mellitus: the role of tumor necrosis factor-alpha in a 2-way relationship. *J Periodontol*. 2003;74(1):97–102.

59. Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. *J Periodontol*. 2005;76(11 Suppl):2075–84.

60. Torpy DJ, Bornstein SR, Chrousos GP. Leptin and interleukin-6 in sepsis. *Horm Metab Res*.

1998;30(12):726–9.

61. Welt CK, Chan JL, Bullen J, Murphy R, Smith P, DePaoli AM, et al. Recombinant human leptin in women with hypothalamic amenorrhea. *N Engl J Med*. 2004;351(10):987–97.
62. Johnson RB, Serio FG. Leptin within healthy and diseased human gingiva. *J Periodontol*. 2001;72(9):1254–7.
63. Selvarajan S. Association Between Gingival Crevicular Fluid Leptin Levels and Periodontal Status – A Biochemical Study on Indian Patients. *J Clin DIAGNOSTIC Res*. 2015;
64. Chaparro-Sanabria JA, Bautista-Molano W, Bello-Gualtero JM, Chila-Moreno L, Castillo DM, Valle-Oñate R, et al. Association of adipokines with rheumatic disease activity indexes and periodontal disease in patients with early rheumatoid arthritis and their first-degree relatives. *Int J Rheum Dis*. 2019;22(11):1990–2000.
65. Bingham CO, Moni M. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: the evidence accumulates for complex pathobiologic interactions. *Curr Opin Rheumatol*. 2013;25(3):345–53.
66. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(10):772–83.
67. Choi HM, Doss HM, Kim KS. Multifaceted Physiological Roles of Adiponectin in Inflammation and Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(4).
68. Armstrong DJ, McCausland EM, Quinn AD, Wright GD. Obesity and cardiovascular risk factors in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006;45(6):782; author reply 782-3.
69. Gulhar R, Ashraf MA, Jialal I. Physiology, Acute Phase Reactants. *StatPearls*. 2021.
70. Gremese E, Tolusso B, Gigante MR, Ferraccioli G. Obesity as a risk and severity factor in rheumatic diseases (autoimmune chronic inflammatory diseases). *Front Immunol*. 2014;5:576.
71. Stavropoulos-Kalinoglou A, Metsios GS, Koutedakis Y, Nevill AM, Douglas KM, Jamurtas A, et al. Redefining overweight and obesity in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis*. 2007;66(10):1316–21.

72. Harman-Boehm I, Blüher M, Redel H, Sion-Vardy N, Ovadia S, Avinoach E, et al. Macrophage infiltration into omental versus subcutaneous fat across different populations: effect of regional adiposity and the comorbidities of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(6):2240–7.
73. Del Prete A, Salvi V, Sozzani S. Adipokines as potential biomarkers in rheumatoid arthritis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:425068.
74. Unriza-Puin S, Bautista-Molano W, Lafaurie GI, Valle-Oñate R, Chalem P, Chila-Moreno L, et al. Are obesity, ACPAs and periodontitis conditions that influence the risk of developing rheumatoid arthritis in first-degree relatives? *Clin Rheumatol.* 2017;36(4):799–806.
75. Arend WP, Firestein GS. Pre-rheumatoid arthritis: predisposition and transition to clinical synovitis. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8(10):573–86.
76. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2011;365(23):2205–19.
77. Deane KD. Learning about the natural history of rheumatoid arthritis development through prospective study of subjects at high risk of rheumatoid arthritis-related autoimmunity. *Arthritis Rheum.* 2012;64(6):1708–12.
78. Abdul Wahab A, Mohammad M, Rahman MM, Mohamed Said MS. Anti-cyclic citrullinated peptide antibody is a good indicator for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Pakistan J Med Sci.* 2013;29(3):773–7.
79. Vossenaar ER, Smeets TJM, Kraan MC, Raats JM, van Venrooij WJ, Tak PP. The presence of citrullinated proteins is not specific for rheumatoid synovial tissue. *Arthritis Rheum.* 2004;50(11):3485–94.
80. van de Sande MGH, de Hair MJH, van der Leij C, Klarenbeek PL, Bos WH, Smith MD, et al. Different stages of rheumatoid arthritis: features of the synovium in the preclinical phase. *Ann Rheum Dis.* 2011;70(5):772–7.
81. Kraan MC, Versendaal H, Jonker M, Bresnihan B, Post WJ, t Hart BA, et al. Asymptomatic

- synovitis precedes clinically manifest arthritis. *Arthritis Rheum.* 1998;41(8):1481–8.
82. Mikuls TR, Thiele GM, Deane KD, Payne JB, O’Dell JR, Yu F, et al. *Porphyromonas gingivalis* and disease-related autoantibodies in individuals at increased risk of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012;64(11):3522–30.
83. Pischon N, Pischon T, Kröger J, Gülmez E, Kleber B-M, Bernimoulin J-P, et al. Association among rheumatoid arthritis, oral hygiene, and periodontitis. *J Periodontol.* 2008;79(6):979–86.
84. Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MHMT, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 2004;50(2):380–6.
85. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen K-A, Lundberg K, et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and α -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2662–72.
86. Rosenstein ED, Greenwald RA, Kushner LJ, Weissmann G. Hypothesis: the humoral immune response to oral bacteria provides a stimulus for the development of rheumatoid arthritis. *Inflammation.* 2004;28(6):311–8.
87. HITCHON CA, CHANDAD F, FERUCCI ED, WILLEMZE A, IOAN-FACSINAY A, van der WOUDE D, et al. Antibodies to *Porphyromonas gingivalis* Are Associated with Anticitrullinated Protein Antibodies in Patients with Rheumatoid Arthritis and Their Relatives. *J Rheumatol.* 2010;37(6):1105–12.
88. Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S, et al. *Porphyromonas gingivalis* promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun.* 2012;39(4):294–303.
89. Oukka M. Th17 cells in immunity and autoimmunity. *Ann Rheum Dis.* 2008;67 Suppl 3:iii26-9.
90. Ogrendik M, Kokino S, Ozdemir F, Bird PS, Hamlet S. Serum antibodies to oral anaerobic bacteria in patients with rheumatoid arthritis. *MedGenMed.* 2005;7(2):2.

91. Mikuls TR, Payne JB, Reinhardt RA, Thiele GM, Maziarz E, Cannella AC, et al. Antibody responses to *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) in subjects with rheumatoid arthritis and periodontitis. *Int Immunopharmacol*. 2009;9(1):38–42.
92. Okada M, Kobayashi T, Ito S, Yokoyama T, Komatsu Y, Abe A, et al. Antibody responses to periodontopathic bacteria in relation to rheumatoid arthritis in Japanese adults. *J Periodontol*. 2011;82(10):1433–41.
93. Scher JU, Abramson SB. Periodontal disease, *Porphyromonas gingivalis*, and rheumatoid arthritis: what triggers autoimmunity and clinical disease? *Arthritis Res Ther*. 2013;15(5):122.
94. Lundberg K, Wegner N, Yucel-Lindberg T, Venables PJ. Periodontitis in RA-the citrullinated enolase connection. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6(12):727–30.
95. Detert J, Pischon N, Burmester GR, Buttgereit F. The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(5):218.
96. Kaur S, White S, Bartold PM. Periodontal disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Dent Res*. 2013;92(5):399–408.
97. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, et al. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 100(25):2473–6.
98. Jéquier E. Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;967:379–88.
99. Gualillo O, Eiras S, Lago F, Diéguez C, Casanueva FF. Elevated serum leptin concentrations induced by experimental acute inflammation. *Life Sci*. 2000;67(20):2433–41.
100. Santos-Alvarez J, Goberna R, Sánchez-Margalet V. Human leptin stimulates proliferation and activation of human circulating monocytes. *Cell Immunol*. 1999;194(1):6–11.
101. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*. 1998;394(6696):897–901.

102. Otero M, Lago R, Gomez R, Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino JJ, et al. Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2006;65(9):1198–201.
103. Lee S-W, Park M-C, Park Y-B, Lee S-K. Measurement of the serum leptin level could assist disease activity monitoring in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2007;27(6):537–40.
104. Hizmetli S, Kisa M, Gokalp N, Bakici MZ. Are plasma and synovial fluid leptin levels correlated with disease activity in rheumatoid arthritis ? *Rheumatol Int*. 2007;27(4):335–8.
105. Busso N, So A, Chobaz-Péclat V, Morard C, Martinez-Soria E, Talabot-Ayer D, et al. Leptin signaling deficiency impairs humoral and cellular immune responses and attenuates experimental arthritis. *J Immunol*. 2002;168(2):875–82.
106. Martin SS, Qasim A, Reilly MP. Leptin resistance: a possible interface of inflammation and metabolism in obesity-related cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(15):1201–10.
107. Bozkurt FY, Yetkin Ay Z, Sütçü R, Delibaş N, Demirel R. Gingival Crevicular Fluid Leptin Levels in Periodontitis Patients With Long-Term and Heavy Smoking. *J Periodontol*. 2006;77(4):634–40.
108. Finck BN, Johnson RW. Tumor necrosis factor (TNF)- α induces leptin production through the p55 TNF receptor. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 2000;278(2):R537–43.
109. Akram Z, Abduljabbar T, Abu Hassan MI, Javed F, Vohra F. Cytokine Profile in Chronic Periodontitis Patients with and without Obesity: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dis Markers*. 2016;2016:1–12.
110. Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Estrada E, Seip R, et al. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(10):4848–56.
111. Codoñer-Franch P, Alonso-Iglesias E. Resistin: insulin resistance to malignancy. *Clin Chim*

Acta. 2015;438:46–54.

112. Abella V, Scotece M, Conde J, López V, Lazzaro V, Pino J, et al. Adipokines, metabolic syndrome and rheumatic diseases. *J Immunol Res.* 2014;2014:343746.

113. Yoshino T, Kusunoki N, Tanaka N, Kaneko K, Kusunoki Y, Endo H, et al. Elevated serum levels of resistin, leptin, and adiponectin are associated with C-reactive protein and also other clinical conditions in rheumatoid arthritis. *Intern Med.* 2011;50(4):269–75.

114. Fattel EC de S, Rosa FT, Simão ANC, Dichi I. Adipokines in rheumatoid arthritis. *Adv Rheumatol.* 2018;58(1):25.

115. Rho YH, Chung CP, Solus JF, Raggi P, Oeser A, Gebretsadik T, et al. Adipocytokines, insulin resistance, and coronary atherosclerosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62(5):1259–64.

116. Alkady EAM, Ahmed HM, Tag L, Abdou MA. [Serum and synovial adiponectin, resistin, and visfatin levels in rheumatoid arthritis patients. Relation to disease activity]. *Z Rheumatol.* 2011;70(7):602–8.

117. Cook KS, Groves DL, Min HY, Spiegelman BM. A developmentally regulated mRNA from 3T3 adipocytes encodes a novel serine protease homologue. *Proc Natl Acad Sci.* 1985;82(19):6480–4.

118. Zhou Q, Ge Q, Ding Y, Qu H, Wei H, Wu R, et al. Relationship between serum adipsin and the first phase of glucose-stimulated insulin secretion in individuals with different glucose tolerance. *J Diabetes Investig.* 2018;9(5):1128–34.

119. Tafere GG, Wondafrash DZ, Zewdie KA, Assefa BT, Ayza MA. Plasma Adipsin as a Biomarker and Its Implication in Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2020;13:1855–61.

120. Song N-J, Kim S, Jang B-H, Chang S-H, Yun UJ, Park K-M, et al. Small Molecule-Induced Complement Factor D (Adipsin) Promotes Lipid Accumulation and Adipocyte Differentiation. Kanzaki M, editor. *PLoS One.* 2016;11(9):e0162228.

121. Li Y, Zou W, Brestoff JR, Rohatgi N, Wu X, Atkinson JP, et al. Fat-Produced Adipsin Regulates Inflammatory Arthritis. *Cell Rep.* 2019;27(10):2809-2816.e3.
122. Busso N, So V, Péclat A, Gabay C. Mice deficient in leptin (ob/ob) or in leptin receptor (db/db) have a milder form of antigen-induced arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2001;3(S2):P023.
123. Cook KS, Min HY, Johnson D, Chaplinsky RJ, Flier JS, Hunt CR, et al. Adipsin: a circulating serine protease homolog secreted by adipose tissue and sciatic nerve. *Science.* 1987;237(4813):402-5.
124. Flier J, Cook K, Usher P, Spiegelman B. Severely impaired adipsin expression in genetic and acquired obesity. *Science* (80-). 1987;237(4813):405-8.
125. Wu X, Hutson I, Akk AM, Mascharak S, Pham CTN, Hourcade DE, et al. Contribution of Adipose-Derived Factor D/Adipsin to Complement Alternative Pathway Activation: Lessons from Lipodystrophy. *J Immunol.* 2018;200(8):2786-97.
126. Camous L, Roumenina L, Bigot S, Brachemi S, Frémeaux-Bacchi V, Lesavre P, et al. Complement alternative pathway acts as a positive feedback amplification of neutrophil activation. *Blood.* 2011;117(4):1340-9.