

Estrategias terapéuticas para la artritis reumatoide: hacia las terapias biotecnológicas

Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis: towards biotechnological therapies

Ángel Fernando Cisneros Caballero,* María José Felgueres Planells,*
 Elisa Vela Jarquín,* Diana Gómez Martín[‡]

* Departamento de Bioingeniería, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM), Campus Ciudad de México. Estos autores contribuyeron de igual manera en el escrito.

‡ Departamento de Inmunología y Reumatología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán», Ciudad de México, México.

Dirección para correspondencia:
 Diana Gómez Martín
 Laboratorio de Inmunología y Reumatología
 Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
 Av. Vasco de Quiroga No.15
 Col. Belisario Domínguez
 Sección XVI, Delegación Tlalpan,
 14080, México, CDMX.
 Teléfono: +52 (55) 5487 0900,
 ext. 4303
 E-mail: diana.gomez@incmnsz.mx

Recibido: 21 de noviembre de 2016.
 Aceptado: 21 de marzo de 2017.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Palabras clave:
 Artritis reumatoide,
 proceso inflamatorio,
 blancos terapéuticos,
 terapias biotecnológicas.

Key words:
 Rheumatoid arthritis,
 inflammatory process,
 therapeutic targets,
 biotechnological therapies.

Resumen

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad multigénica y de naturaleza autoinmune caracterizada por la inflamación crónica de las articulaciones a causa de la hiperplasia de la membrana sinovial, lo que crea un conglomerado anormal de células del sistema inmune secretoras de citocinas proinflamatorias que contribuyen a la destrucción del cartílago y el hueso circundante. Los pacientes que padecen AR reportan síntomas como dolor constante, discapacidad funcional, fatiga, depresión y la incapacidad de realizar tareas cotidianas. Esta patología afecta sobre todo a las articulaciones diartrodiales: aquellas con una cavidad sinovial y un amplio rango de movimiento. Además, la AR representa un problema de salud pública al ser una de las principales causas de discapacidad a nivel mundial, con una prevalencia de entre el 0.3 y el 1% de la población; afecta en especial a aquellos en edad productiva. Al día de hoy, sigue sin haber cura para esta enfermedad y los tratamientos actuales son parcialmente efectivos en disminuir la tasa de progresión del padecimiento, por lo que otorgan solo mejorías sintomáticas, sin lograr la remisión absoluta. Este artículo resume los mecanismos de la AR, haciendo referencia a las citocinas proinflamatorias más relevantes en la fisiopatología, las cuales han constituido varios de los blancos terapéuticos más importantes para tratar la enfermedad. De igual forma, se describen las últimas estrategias de tratamiento basadas en acercamientos biotecnológicos que van desde la implementación de terapias biológicas haciendo uso de anticuerpos hasta el diseño de nuevos fármacos basados en terapia génica que permiten abordar el padecimiento de manera más eficiente al buscar ir más allá del tratamiento paliativo convencional.

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a multigenic autoimmune disease characterized by the chronic inflammation of the joints due to the hyperplasia of the synovium. This process creates a conglomerate of immune cells capable of secreting proinflammatory cytokines that contribute to the surrounding bone and cartilage destruction. Patients who suffer from this disease develop symptoms such as constant pain, functional disability, fatigue, and depression. Specifically, RA affects the synovial joints (also called diarthrodial joints), which connect bones with a large range of movement. Since it is one of the main causes of incapacitation for carrying out daily tasks, RA represents, as a consequence, a severe public health problem. It has a worldwide prevalence between 0.3 and 1% and affects mainly the productive age group. Up to this day, there is still no cure for RA, and current treatments are partially effective in slowing down the disease's progression and alleviating the symptoms. This review article summarizes the RA's physiopathology, particularly focusing on pro-inflammatory cytokines responsible for the disease's onset and prognosis, as they have been used as a common therapeutic target in RA. Furthermore, this review also describes the latest biotechnological therapeutic approaches, focusing on both the research and development of genetic and biological therapies, being antibodies the most important, in order to go further beyond the palliative care and straight into more efficient anti-RA treatment.

Introducción: generalidades sobre la artritis reumatoide

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria, crónica, autoinmune y sistémica de etiología multifactorial.¹ Este padecimiento se caracteriza por la inflamación poliarticular al comprometer el funcionamiento de seis o más articulaciones a lo largo de su evolución; las más afectadas son las articulaciones diartrodiales de las manos, pies y rodillas. No obstante, puede dañarse también la columna vertebral y la articulación atlantoaxial, lo que contribuye a una de las principales causas de mortalidad de la patología.^{2,3}

En cuanto al comportamiento clínico, aproximadamente el 20% de los pacientes con AR presenta un patrón monocíclico, el 70% manifiesta patrones de curso policíclico, con exacerbaciones y remisiones parciales, y el 10% un patrón progresivo que, de no limitarse, provoca daño articular irreversible, limitación funcional y discapacidad. Todos estos comportamientos clínicos ocurren tras haber desarrollado síntomas como dolor constante, fatiga, depresión y dificultad para realizar tareas cotidianas.⁴

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que la prevalencia de la artritis reumatoide a nivel mundial varía entre 0.3 y 1%,³ resultando positivas 41 de cada 100,000 consultas.⁵ Esta enfermedad resulta ser más frecuente en mujeres que en hombres, en una relación de 3:1; sin embargo, esta diferencia entre sexos disminuye a edades más avanzadas.³ En México, la artritis reumatoide constituye un problema de salud pública debido a su prevalencia a nivel nacional del 1.6%,⁶ lo que tiene como consecuencias el impacto socioeconómico y el incremento en el uso de los servicios de salud.¹ Se estima que el costo médico directo anual de padecer artritis reumatoide a nivel mundial es de \$5,944 USD, mientras que en México es de \$2,334 USD. En cuanto al gasto de bolsillo del paciente en México, este es de \$610 USD anuales.⁶ El elevado costo del tratamiento para los individuos con AR funda una razón importante para dedicar esfuerzos al diagnóstico temprano y abordaje oportuno de este padecimiento, lo que incrementa la probabilidad de controlar el proceso inflamatorio, limitar la progresión del daño, mejorar la calidad de vida y la funcionalidad y asegurar la pronta reincorporación del sujeto a su vida productiva y social.⁶

Los avances significativos que se han obtenido en los últimos años, tanto en la clínica como en la investigación básica de la patogenia de la AR, se han dado gracias al estudio profundo de la historia natural de la enfermedad, al mejoramiento de las pruebas de diagnóstico y al desa-

rollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en la biotecnología.⁷ En lo referente al diagnóstico, el diseño de índices como el DAS28 (*Disease Activity Score*), el CDAI (*Clinical Disease Activity Index*) y los criterios de remisión del ACR (*American College of Rheumatology*) ha permitido dar un mayor seguimiento al desarrollo de la patogénesis e implementar el abordaje adecuado al evaluar parámetros como la velocidad de sedimentación de eritrocitos y las manifestaciones de dolor y tumefacción, entre otros.⁷⁻¹¹ Adicionalmente, en los últimos años se han comenzado a dilucidar nuevos blancos terapéuticos que pueden ser regulados mediante terapias de origen biotecnológico con el fin de proporcionar una forma de tratamiento más efectivo, ya que, hasta ahora, las formas implementadas solamente han logrado disminuir los síntomas y el dolor asociado con la actividad física. El propósito de la terapia biotecnológica es desacelerar la progresión de la enfermedad al intervenir, mediante alguna de las vías de señalización involucradas, en la fisiopatología del padecimiento y así evitar la afectación crónica en el paciente.¹²

El objetivo de este artículo de revisión es describir los eventos clave en la fisiopatología de la AR, resaltando la importancia de las citocinas proinflamatorias y su papel en la activación y prognosis de la enfermedad, así como su aplicación como blancos terapéuticos. De igual forma, el texto describe el camino que las estrategias de tratamiento han tomado para combatir el padecimiento de manera efectiva: desde terapias con fármacos convencionales hasta la aplicación de otras biotecnológicas. Dentro de estas, se presta especial atención hacia el uso de agentes biológicos como los anticuerpos y de fármacos con implicaciones a nivel genético. Así mismo, se postulan nuevos blancos terapéuticos cuyo tratamiento podría ser administrado en vehículos novedosos como, por ejemplo, nanopartículas poliméricas.

Patología de la enfermedad

La primera etapa de la patogénesis de la AR se caracteriza por la activación de la respuesta inmune innata, la cual consiste en la estimulación de las células presentadoras de antígeno (CPA) mediada por la presencia de autoantígenos que, en el caso de la AR, son propios de la sinovia. Las CPA, que incluyen a las células dendríticas, los macrófagos y los linfocitos B, estimulan, a su vez, a los linfocitos T,¹² desencadenando así una cascada de reacciones que, de forma subsecuente, promueve la inflamación en la articulación al formar un cúmulo de células del sistema inmune (linfocitos B, linfocitos T CD₄⁺, células dendríticas, neutrófilos, mastocitos y macrófagos), mismo

que con el paso del tiempo deriva en la hiperplasia y la neovascularización de la membrana sinovial.⁷

El tejido sinovial inflamado promueve la destrucción de la articulación mediante la activación de osteoclastos, condrocitos y fibroblastos sinoviales que destruyen el cartílago y hueso vecino (Figura 1). La médula ósea subyacente también es infiltrada por agregados de linfocitos T y B autorreactivos y es dañada, en consecuencia, por el proceso inflamatorio persistente. El daño en la articulación se convierte en un nuevo origen de producción de antígenos que perpetúan la reacción autoinmune patogénica. Finalmente, el ambiente hipóxico y de carácter angiogénico induce un estrés biomecánico a la articulación inflamada, lo que activa nuevas vías de señalización inmunológicas que favorecen el daño.¹⁰

El reconocimiento y la expresión de los autoantígenos por parte de las CPA se debe al reconocimiento y procesamiento de estos por el complejo principal de

histocompatibilidad (*major histocompatibility complex*, MHC) clase II (II) de estas células. Estudios han demostrado que cerca del 80% de los individuos diagnosticados con artritis reumatoide son portadores del serotipo 4 del dominio DRB1 del HLA (*human leukocyte antigen*) en el MHC II. Las CPA que poseen esta mutación son capaces de reconocer y presentar los antígenos artríticos propios, propiciando la iniciación de la enfermedad.¹³

A pesar de que la presencia de los alelos de riesgo del HLA representa el 75% de la probabilidad de desarrollar AR a causa de un origen genético, se han identificado también otros *loci* relacionados con el riesgo de manifestar el padecimiento, como lo son PTPN22 (proteína tirosina fosfatasa no-receptora tipo 22), PADI4 (peptidil arginina deiminasa tipo 4), STAT4 (factor de transcripción característico de células T), TRAF1 (factor asociado al receptor del factor de necrosis tumoral), TNFAIP3 (receptor de factor de necrosis tumoral), IL-6,

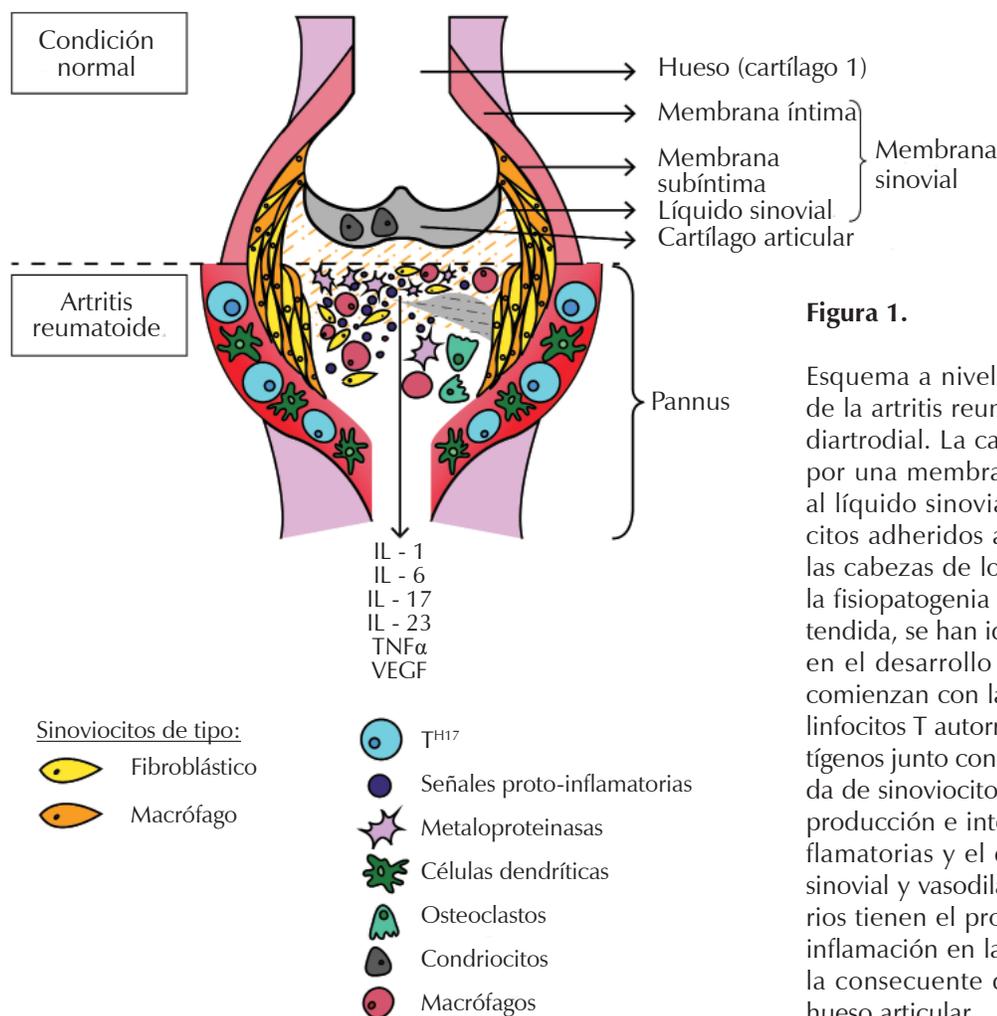


Figura 1.

Esquema a nivel celular de la fisiopatología de la artritis reumatoide en una articulación diartrodial. La cavidad artrítica está rodeada por una membrana sinovial, la cual alberga al líquido sinovial, la población de sinoviocitos adheridos a la membrana subíntima y las cabezas de los huesos o epífisis. Aunque la fisiopatogenia de la AR no es del todo entendida, se han identificado elementos claves en el desarrollo de este padecimiento que comienzan con la respuesta específica de los linfocitos T autorreactivos a determinados antígenos junto con la proliferación descontrolada de sinoviocitos, la estimulación de vías de producción e interacción de citoquinas proinflamatorias y el desarrollo de la hiperplasia sinovial y vasodilatación. Todos estos escenarios tienen el propósito final de generar una inflamación en la articulación, lo que lleva a la consecuente degradación del cartílago y hueso articular.

CTLA y CD40.^{12,14,15} Por lo tanto, dado que se trata de una patología multigénica, la evaluación de marcadores clínicos y biológicos en cada sujeto se hace necesaria para brindar un tratamiento personalizado, seleccionar blancos terapéuticos acertados y, de esta forma, mejorar la eficiencia de cualquier terapia.^{13,16}

El papel de las citocinas dentro del esquema fisiopatológico de la artritis reumatoide

Las citocinas están implicadas en todas las etapas de la patogénesis de la AR, ya que el desequilibrio entre citocinas pro- y antiinflamatorias favorece la reacción autoinmune que desencadena la inflamación crónica y, en consecuencia, provoca el daño a la articulación.¹² Actualmente se desconoce la jerarquía organizacional de las citocinas;¹⁰ sin embargo, la evidencia sugiere que lo más relevante dentro de la patogenia de la AR es la compleja interacción de las citocinas entre sí, que se encuentra alterada y mantiene circuitos de retroalimentación que perpetúan la enfermedad.¹⁷

De forma particular, llaman la atención los linfocitos T_H17, secretores de la interleucina IL-17, y los macrófagos y fibroblastos autorreactivos. Mientras que la IL-17 es una citocina con actividad proinflamatoria que parece desempeñar un papel iniciador en este padecimiento, los macrófagos y los fibroblastos autorreactivos son células fundamentales para el daño crónico,¹² ya que propician la transcripción de oncogenes, la inhibición de la apoptosis y la secreción de citocinas, quimiocinas, metaloproteinasas de la matriz y catepsinas, que terminan por catalizar la destrucción articular.¹⁷ Si la inflamación persiste hasta alcanzar un nivel crónico, se desarrolla entonces un tejido granulador llamado *pannus*, que se extiende sobre la superficie articular y promueve la vascularización del cartílago y la rigidez de la articulación.

Dada la importancia de las citocinas en la patología de la AR, líneas de investigación han estudiado a profundidad el papel de varias citocinas que se perfilan como posibles blancos terapéuticos (*Cuadro I*) para nuevos tratamientos contra esta patología,¹² en especial, el de aquellas involucradas en la regulación del sistema inmune y las responsables de los eventos que preceden a la presentación clínica y la progresión de la enfermedad.¹⁰

Estrategias de tratamiento

Terapias farmacológicas convencionales

Algunas de las estrategias de tratamiento más utilizadas en contra de la AR incluyen a las drogas no esteroi-

deas antiinflamatorias (*nonsteroidal anti-inflammatory drugs*, NSAID) —mismas que han estado en uso desde hace aproximadamente 50 años y son paliativas, dado que alivian los síntomas sin modificar el origen del padecimiento *per se*—^{12,18,19} y a las drogas antirreumáticas modificadoras de la patología (*disease-modifying antirheumatic drug*, DMARD).²⁰ Ejemplos de medicamentos bajo estas clasificaciones pueden apreciarse en el *cuadro II*. Sin embargo, muchos de los pacientes parecen no responder de manera satisfactoria ante su implementación,²¹ mientras que en otros ocasionan diversos efectos secundarios cardiovasculares, gastrointestinales, renales o hepáticos, entre otros. En particular, se estima que la probabilidad de que un individuo con AR sea hospitalizado o muera por un efecto adverso gastrointestinal relacionado con el uso de NSAID es de entre el 1.3 y el 1.6%.¹⁸

Por ejemplo, dentro de los DMARD más utilizados en el tratamiento de la AR está el metotrexato (MTX), el cual es hoy considerado el estándar de oro de los fármacos para este padecimiento al inhibir la síntesis de purinas y pirimidinas, reducir la proliferación de linfocitos T y suprimir la inflamación mediante liberación de adenosina. La efectividad del MTX como terapia para aliviar la AR fue demostrada en 1985 y, desde entonces, ha evolucionado a ser un agente administrado en conjunto con otros de origen biológico para el tratamiento paliativo de la enfermedad.^{22,23} A pesar de su eficacia a corto plazo, la exposición constante y a largo plazo del MTX (de nombre comercial Ledertrexate, Trixilem, etcétera) ha sido asociada a hipersensibilidad aguda y neumonía en sujetos con AR.²⁴⁻²⁶ Se ha comprobado también que las personas tratadas con este medicamento pueden desarrollar cánceres con un 50% más de probabilidad que cualquier otro paciente. Los individuos tratados con MTX tienen tres veces más posibilidad de presentar melanoma, cinco veces más de manifestar linfoma no Hodgkin (un tipo de cáncer asociado con la proliferación de linfocitos T y B) y tres veces más de tener cáncer de pulmón.²⁷ De igual forma, se ha observado que el MTX puede producir fibrosis asociada a procesos inflamatorios similares a la esteatohepatitis y promover la expresión de aminotransferasas. Estos efectos pueden progresar hasta convertirse en cirrosis.²⁸

Por otro lado, la leflunomida (de nombre comercial Arava) ha sido asociada también a daño alveolar, neumonía eosinofílica, hiperreactividad y neumonía criptogénica organizada.²⁵ Se han reportado este tipo de casos en poblaciones japonesas,^{29,30} y con menor incidencia en poblaciones occidentales,³¹ aunque una tendencia en común en los sujetos afectados por la leflunomida es el padecimiento previo de problemas respiratorios.

Dado que las terapias farmacológicas convencionales no han logrado cumplir con las expectativas de un tratamiento eficaz, específico, económico y absuelto de efectos secundarios, se propone que el abordaje contra la AR dé un giro hacia la industria biotecnológica con el fin de diseñar fármacos más especializados dirigidos hacia nuevos blancos terapéuticos de este padecimiento. En las secciones siguientes de este artículo se resumen los tratamientos actuales basados en la biotecnología y se presentan perspectivas de

nuevos blancos terapéuticos, así como vehículos de administración.

A diferencia de los medicamentos tradicionales de origen químico cuyo objetivo es actuar de manera solo paliativa, las terapias biotecnológicas son fármacos creados en específico en contra de los agentes causantes de la enfermedad. Los tratamientos biotecnológicos son desarrollados en organismos vivos con base en tecnologías como, principalmente, DNA recombinante, anticuerpos terapéuticos, proteínas

Cuadro I. Principales citocinas empleadas como blancos terapéuticos en el tratamiento de la AR.

Blanco terapéutico (cromosoma)	Características	Función	Contribución a la fisiopatogenia de AR	Referencias
IL-1 (2q13)	Pertenece a una familia de 11 citocinas. IL-1 β requiere un corte por parte del inflamósoma para ser biológicamente activa de 17.5 kDa	IL-1 α e IL-1 β , actúan sobre un mismo receptor y compiten contra el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra). Su producción se relaciona con el incremento de otras citocinas proinflamatorias, macrófagos, linfocitos B y T	Interviene en la destrucción del cartílago mediante la secreción de metaloproteinasas y la inhibición de la síntesis de glucosaminoglucanos en AR	60-64
IL-6 (7)	Glicopéptido de 26 kDa capaz de activar células a través de receptores en membrana (IL-6R) o solubles (sIL-6R)	IL-6 forma un complejo con sIL-6R y la glicoproteína 130 que participa en el cambio de inflamación aguda a crónica. Estimula la proliferación de células T y su diferenciación hacia un fenotipo Th17. Induce la diferenciación de células B	Es una de las citocinas más abundantes en la sinovia. Induce la síntesis de VEGF, asociado a la actividad reumática. Recluta osteoclastos, inhibe la síntesis de proteoglicano y promueve la resorción del hueso y el daño al cartílago	65
IL-17 (6)	Existen 6 distintas isoformas: (A, B, C, D, E, F). Es un homodímero de dos glicoproteínas unidas por un puente disulfuro	Incrementa la expresión de RANKL. Induce la síntesis de IL-1, IL-6 y TNF- α . Induce la expresión de genes proinflamatorios, promueve la supervivencia de linfocitos B y su producción de anticuerpos. Las isoformas A, B, C y F reclutan neutrófilos y la E recluta eosinófilos	Se han encontrado niveles altos de esta citocina en AR. Promueve osteoclastogénesis y la subsecuente destrucción de hueso, así como la erosión de ligamentos. Promueve la síntesis de metaloproteinasas. IL-17A también promueve osteoclastogénesis	38,66,67

Continúa el Cuadro I. Principales citocinas empleadas como blancos terapéuticos en el tratamiento de la AR.

Blanco terapéutico (cromosoma)	Características	Función	Contribución a la fisiopatogenia de AR	Referencias
IL-18 (11q22.2-22.3)	Glicoproteína de la superfamilia de IL-1. Tiene un peso molecular de 18 kD	Induce la maduración, migración y activación de las células Th1 junto con IL-12 e IL-23. Promueve el fenotipo Th2 en ausencia de IL-4. Induce la producción de citocinas en células NK, macrófagos y neutrófilos. Promueve angiogénesis	Media la erosión del cartílago, activa a los neutrófilos de la sinovia y promueve la apoptosis retardada de células endoteliales y fibroblastos. Sus componentes fueron identificados en modelos murinos de enfermedades autoinmunes	68,69
IL-23 (12q13.2; 11q1.3)	Glicoproteína de la familia IL-12. Está compuesta por dos subunidades: p40 (11q1.3) (compartida con IL-12) y p19 (12q13.2)	Induce la producción de IL-17 por linfocitos no-T. Promueve la supervivencia y/o expansión de linfocitos Th17. Activa la producción de RANKL en linfocitos CD4+	Promueve la inflamación autoinmune de fases avanzadas en articulaciones. Algunos alelos del receptor de IL-23 han sido identificadas como factores de riesgo de AR en población húngara, pero no hay reportes en otras poblaciones	70-74
IL-27 (16; 19q13.3)	Miembro de la familia IL-6/IL-12. Es un heterodímero de EB13 (cromosoma 19q13.3) e IL-27p28 (cromosoma 16)	Regula la diferenciación de linfocitos Th1. Suprime la proliferación de linfocitos Th17. Estimula la actividad de linfocitos T citotóxicos. Expande linfocitos T reguladores (Treg) y linfocitos T <i>naïve</i> . Promueve la producción de IFN γ	IL-27 es abundante en líquido sinovial y suero de pacientes con AR. Induce una mayor producción de IL-6, CCL2, CXCL9, CXCL10, ICAM-1 y MMP-1 <i>in vitro</i> en FLS de AR que en controles. Regula la angiogénesis en la sinovia	75-77
IL-32 (16p13.3)	Citocina proinflamatoria con al menos nueve isoformas (α , β , γ , δ , ϵ , ζ , η , θ , s). Es codificada por un gen de ocho exones	Su expresión se correlaciona con VSG, TNF- α , IL-1 β e IL-18. Junto con sRANKL, agrava la actividad de osteoclastos y la resorción de tejidos	La isoforma IL-32 γ es la isoforma más activa y está sobreexpresada en sinoviocitos de tipo fibroblástico en AR. Promueve osteoclastogénesis en forma dependiente de RANKL	78-81
IL-35 (19q13.3; 3q25.33)	Citocina heterodimérica de la familia de IL-12 compuesta por IL-12p35 (cromosoma 3q25.33) y EB13 (34 kDa)	Induce la proliferación de linfocitos Treg y su secreción de IL-10 e inhibe la proliferación de otros linfocitos T. Regula respuestas inmunitarias celulares. Inhibe la actividad de linfocitos Th17 <i>in vitro</i>	Se ha asociado IL-35 con AR en distintas poblaciones. Es un blanco terapéutico hipotético para AR por su regulación de respuestas inflamatorias	82-84

Continúa el Cuadro I. Principales citocinas empleadas como blancos terapéuticos en el tratamiento de la AR.

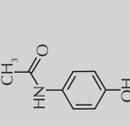
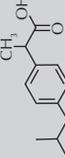
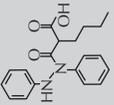
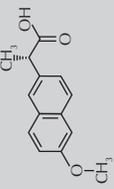
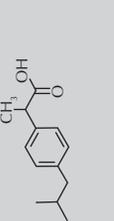
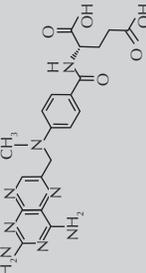
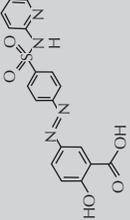
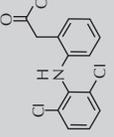
Blanco terapéutico (cromosoma)	Características	Función	Contribución a la fisiopatogenia de AR	Referencias
TNF α (6)	El factor de necrosis tumoral es una glicoproteína soluble de 17 kDa que se forma a partir del corte de pro-TNF por MMP	Induce la producción de IL-17 en linfocitos Th17. Activa a los macrófagos y a NF- κ B para producir citocinas inflamatorias, quimiocinas y proteínas de supervivencia celular. Estimula la producción de anticuerpos	El aumento de TNF α activa a la proteína fosfatasa 1 (PP1) por vías de señalización. PP1 lleva a la disfunción de linfocitos T reguladores a partir de la desfosforilación del factor de transcripción FOXP3 en AR	85-89
TWEAK (17p13.1)	Es una citocina pleiotrópica de la superfamilia del TNF que puede expresarse como proteína membranar o proteína soluble	El inductor débil de apoptosis similar al TNF (TWEAK) induce crecimiento celular, angiogénesis, apoptosis y producción de citocinas inflamatorias. Participa en la diferenciación de osteoclastos. Sus funciones varían en presencia de TNF α	TWEAK está sobreexpresada en el tejido sinovial de individuos con AR. Induce la liberación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias como IL-6, IL-8, MMP-1, MCP-1 y RANTES por los sinoviocitos	17,90,91
APRIL (17p13)	APRIL es una citocina homotrimérica de 63 kDa la superfamilia del TNF. Su secuencia tiene un 30% de homología con BlyS	Regula la supervivencia y diferenciación de linfocitos B. Se expresa en linfocitos T, macrófagos, células dendríticas y osteoclastos. Induce la expresión de moléculas coestimuladoras y presentación de antígeno en linfocitos B	Sus niveles están correlacionados con el conteo de células plasmáticas en la articulación, la presencia de IgM autoinmunes y la secreción de citocinas proinflamatorias por fibroblastos de la sinovia	17,92
BlyS (13q34)	BlyS es una citocina 17 kDa de la superfamilia del TNF. A diferencia de APRIL, puede estar embebido en la membrana	Al igual que TWEAK, regula la supervivencia y diferenciación del linfocito B y se expresa en linfocitos T, macrófagos, células dendríticas y osteoclastos	El bloqueo de BlyS mejora la artritis experimental debido a la supresión de la diferenciación Th17. Su inhibición previene la progresión del padecimiento y se encuentra sobre todo en sinovitis del centro germinal	17,92,93

recombinantes y RNA interferente (Figura 2). El fin de las terapias biotecnológicas en la AR es generar tratamientos muy efectivos dirigidos a un blanco en particular, lo que permite alivio y sanación en un lapso de menor tiempo y sin llegar a comprometer el metabolismo a nivel sistémico debido a efectos secundarios.

Terapias biotecnológicas: uso de agentes biológicos terapéuticos

Las estrategias de tratamiento con agentes biológicos más efectivas están dirigidas sobre todo a la regulación de moléculas implicadas en la fisiopatología de

Cuadro II. Terapia farmacológica convencional.

Familia de fármacos	Mecanismo de acción	Medicamentos	Efectos secundarios	Referencias
Drogas no esteroideas anti-inflamatorias (<i>nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAID</i>) y glucocorticoides	Efecto paliativo: antipiréticos, analgésicos y antiinflamatorios. Bloquean la síntesis de prostaglandinas a través de la inhibición de ciclooxigenasas (COX-1, COX-2).	Paracetamol  IUPAC: N-(4-hidroxifenil)acetamida Ibuprofeno 	Bumadizona  Ácido 2-[(1,2-difenilhidrazina)carbonyl]hexanoico Naproxeno 	7,16,17,56,111-113
Drogas antiirreumáticas modificadoras de la enfermedad (<i>disease-modifying antirheumatic drug, DMARD</i>)	Remisión de la artritis reumatoide; control de la cavidad inflamatoria. Inhiben la quimiotaxis, proliferación de células inflamatorias y producción de IgA e IgM. Promueven apoptosis de las células inflamatorias.	Ácido (RS)-2-(4-isobutilfenil)propanoico  Metotrexato (MTX): primera elección en el tratamiento de la AR 	Ácido 2-hidroxi-5-[(E)-2-{4-[(piridin-2-il)sulfamoyl]fenil} diazen-1-il]benzoico 	21,24,56,114-116
		Ácido 2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}acético Sulfasalazina (DMARD sintético) 	Disminución en la producción de hematoblastos, daño hepático, daño pulmonar, daño cutáneo y epitelial. Aumenta el riesgo de desarrollar linfoma. Hipersensibilidad aguda y neumonía. Fibrosis asociada a procesos inflamatorios similares a la esteatohepatitis.	

la AR, como lo son las citocinas.^{17,21} En los cuadros III y IV se enlistan los tratamientos basados en agentes biológicos para las principales citocinas involucradas en el proceso inflamatorio en la patología.

Dentro de las terapias con agentes biológicos más utilizadas, se ha comprobado que el uso de anticuerpos específicos antagonistas (anti-TNF α , por ejemplo) y receptores solubles (TNFR, en el caso de TNF α) ha

logrado disminuir la gravedad de la patología mediante la regulación de la actividad proinflamatoria de las citocinas. Tanto los anticuerpos específicos como los receptores solubles capturan citocinas que se encuentran libremente circulando, evitando así la unión con su receptor y bloqueando la vía de señalización de la que son responsables.³² Un ejemplo de este tipo de terapia es el etanercept, el primer tratamiento biológico

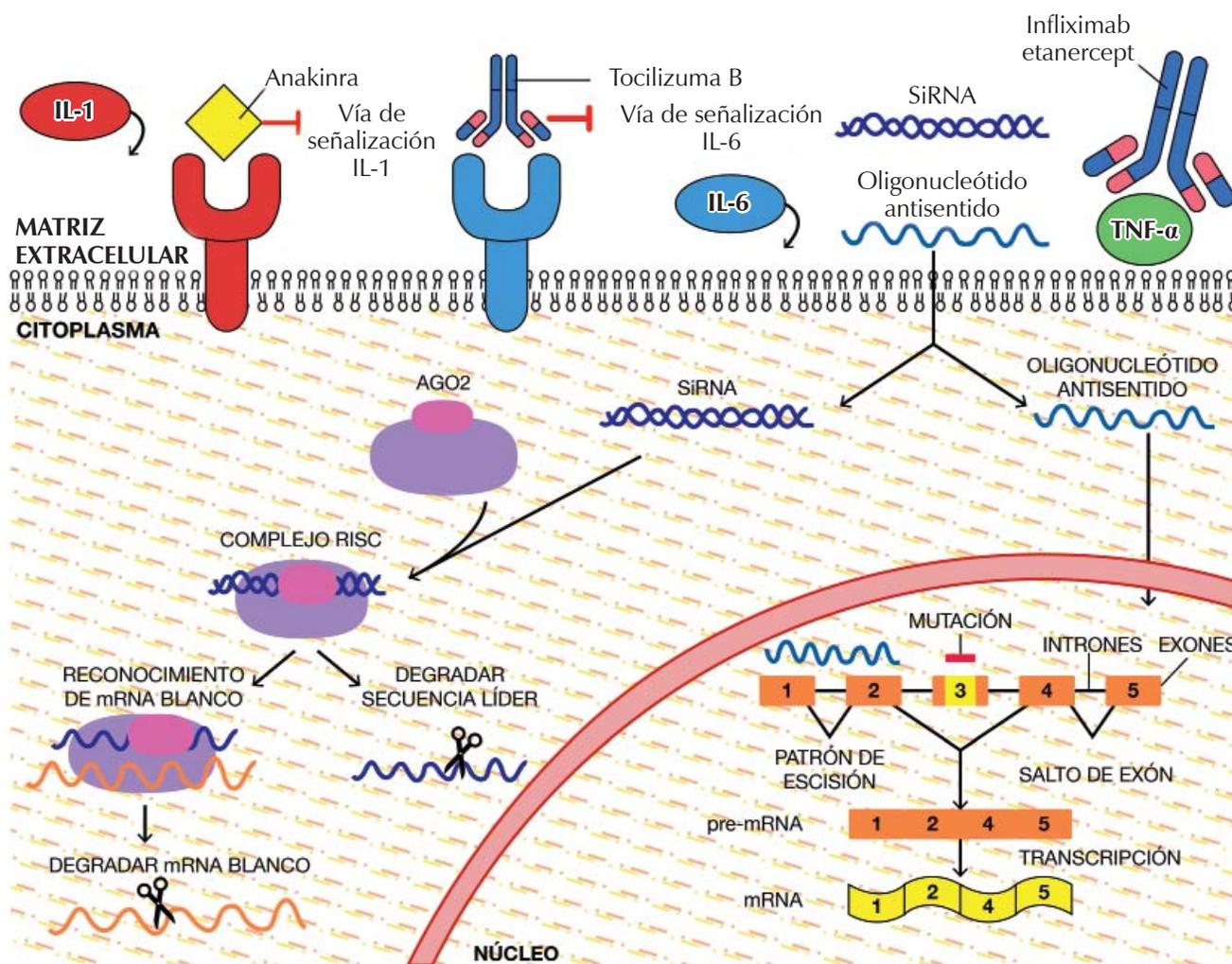


Figura 2. Esquema a nivel molecular del mecanismo de acción de anticuerpos monoclonales y terapias génicas en tratamientos biotecnológicos contra la AR. Los primeros fármacos biotecnológicos consistieron en proteínas recombinantes y anticuerpos monoclonales. Anakinra, antagonista del receptor de IL-1, y tocilizumab, anticuerpo monoclonal inhibidor del receptor de interleucina 6, son dos ejemplos de este tipo de estrategias. Ambos fármacos bloquean la cascada de señalización iniciada por la unión de las interleucinas a su respectivo receptor transmembranal. De la misma manera, se ha estandarizado ya la vía de bloquear la acción del TNF α mediante anticuerpos monoclonales (infiximab) y proteínas recombinantes antagonistas (etanercept). La terapia génica busca, mediante la administración de oligonucleótidos antisentido o secuencias de siRNA, bloquear la transcripción de la proteína disfuncional por una mutación en su secuencia de DNA o regular la expresión de esta proteína en el medio celular por medio del complejo RISC, respectivamente.

Cuadro III. Compilación de estrategias de tratamiento basadas en anticuerpos terapéuticos.

Blanco terapéutico	Técnica	Modelo experimental	Resultados	Referencias
IL-6	<ol style="list-style-type: none"> Administración intravenosa de anticuerpos humanizados (tocilizumab) dirigidos al receptor de IL-6 Administración intravenosa de un anticuerpo monoclonal (BMS945429) dirigido a IL-6 en conjunción con metotrexato 	<ol style="list-style-type: none"> Pacientes humanos con AR que no habían respondido previamente al tratamiento con metotrexato (pruebas clínicas aleatorizadas de doble ciego) Pacientes humanos con AR (pruebas clínicas de fase II aleatorizadas, de doble ciego y con placebo) 	<ol style="list-style-type: none"> Tasas de ACR20 del 61% y 63% en los grupos que recibieron 4 y 8 mg/kg de tocilizumab y del 63% y 74% cuando estas dosis fueron acompañadas con metotrexato Tasas de mejoría a la semana 12 de ACR20 y ACR70 de hasta el 82% y 25% con la dosis de 320 mg. Para la semana 16, estas tasas fueron de 82% y 43% con la misma dosis 	<ol style="list-style-type: none"> ⁹⁶ ⁹⁷
IL-17	<ol style="list-style-type: none"> Administración intravenosa de IgG1κ humano contra IL-17 (secukinumab) Administración intravenosa de IgG4 humanizada contra IL-17 (ixekizumab) Administración intravenosa de IgG2 de humanos contra la subunidad A de IL-17R (brodalumab) 	<ol style="list-style-type: none"> Pacientes humanos con AR (pruebas clínicas de fase II aleatorizadas, de doble ciego y con placebo) Pacientes humanos con AR (pruebas clínicas de fase II aleatorizadas, de doble ciego y con placebo) Pacientes humanos con AR (pruebas clínicas de fase II aleatorizadas, de doble ciego y con placebo) 	<ol style="list-style-type: none"> Mayores tasas de ACR20 con distintas dosis de secukinumab tras 16 semanas que con el placebo (47-54%, vs. 36%). Actualmente en pruebas clínicas de fase III Mayores tasas de ACR20 con ixekizumab tras 12 semanas (43-70% vs. 35%) No hubo diferencias significativas en las tasas de ACR50 con distintas dosis de brodalumab (10-16% vs. 13%). Estudios discontinuados 	<ol style="list-style-type: none"> ^{98,99} ^{98,100} ^{98,101}
IL-18	Administración intraperitoneal de una dosis de IgG contra IL-18	Ratones DBA/1 con artritis inducida por colágeno (CIA)	Disminución de la destrucción del cartílago de la articulación y de los niveles en suero de IL-6. Reducción de la inflamación sinovial	¹⁰²
TNFα	Administración intraperitoneal tres veces a la semana durante cuatro semanas de anticuerpos bivalentes para TNFα e IL-17	Ratones transgénicos con TNFα humano	Prevención de la degradación de cartílago similar a la obtenida con altas dosis de inhibidores de TNFα. Reducción significativa de sinovitis	³⁸
TWEAK	Administración intravenosa de IgG1 humanizada contra TWEAK (BIIB023)	Pacientes humanos con AR bajo un tratamiento con inhibidores de TNFα y metotrexato (pruebas clínicas de fase I aleatorizadas, de doble ciego y con placebo)	No se registraron efectos adversos severos del uso de anticuerpos terapéuticos. Disminución de quimiocinas como MCP-1, IP-10 y MIP-1β	¹⁰⁹

Cuadro IV. Compilación de estrategias de tratamiento basadas en proteínas recombinantes.

Blanco terapéutico	Técnica	Modelo experimental	Resultados	Referencias
IL-1	Administración subcutánea diaria de anakinra en conjunto con metotrexato y ácido fólico	Pacientes humanos con AR (pruebas clínicas aleatorizadas, de doble ciego y controladas con placebo)	Mayores tasas de ACR20 con el tratamiento que con el placebo (38% vs. 22%)	95
IL-18	Administración intraperitoneal diaria durante 7 días de la isoforma a de una proteína humana recombinante de unión a IL-17 (rhIL-17BP)	Ratones DBA/1 con CIA	Disminución de la destrucción del cartílago de la articulación y de los niveles en suero de IL-6. No mostró una reducción de la inflamación sinovial	103
IL-23	Sobreexpresión de tristetraprolina (TTP) a partir de una transfección con el gen de TTP	Línea celular RAW264.7 de macrófagos murinos	TTP media la degradación del RNAm de p19, un componente de IL-23. Disminución de la expresión de TNF- α	104
IL-27	1. Administración intraperitoneal durante 10 días de IL-27 2. Administración intraarticular de adenovirus con un plásmido con cDNA de IL-27	1. Ratones DBA/1 con CIA 2. Ratones DBA/1 con CIA	1. Menor infiltración de parte de células mononucleadas y polimorfonucleadas a la articulación y menor erosión de hueso que en controles 2. Expresión local de IL-27. Disminución local significativa de los niveles de IL-17, IL-1 β , IL-6, CXCL1, CXCL5 y CCL2. Menor reclutamiento de neutrófilos y monocitos	1. ¹⁰⁶ 2. ⁷⁶
IL-35	1. Inyección intramuscular y electrotransfección de un plásmido que codifica para IL-35 2. Administración subcutánea diaria de IL-35 recombinante	1. Ratones BDA/1 con CIA 2. Ratones C57BL/6 con CIA	1. Aumento en la destrucción articular. Aumento de respuesta Th17 y disminución de Treg. Se consideró que los componentes de IL-35 pudieron haberse separado y la respuesta inflamatoria habría estado mediada por p35 2. Inhibición del desarrollo de CIA. Supresión de linfocitos Th1 y Th17. Disminución de anticuerpos contra colágeno	1. ¹⁰⁷ 2. ¹⁰⁸
APRIL/ BlyS	Administración subcutánea de una proteína de fusión recombinante (atacicept) con afinidad para BlyS y APRIL	Pacientes humanos con AR (pruebas clínicas de fase Ib aleatorizadas, de doble ciego y con placebo)	Solo tres de los 80 pacientes presentaron efectos adversos severos. Reducción dosis-dependiente de entre el 30-40% de los conteos de linfocitos B. Disminuciones transitorias en los títulos de IgM	110

dirigido contra la AR aprobado por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos (*Food & Drug Administration*, FDA) en 1998.²¹ El mecanismo de acción del etanercept consiste en fungir como un antagonista del factor de necrosis tumoral ($TNF\alpha$), una citocina secretada sobre todo por macrófagos, mastocitos y linfocitos T activos, que estimula a los macrófagos mismos a incrementar su capacidad fagocítica. Etanercept es un dímero compuesto por dos moléculas recombinantes del receptor de $TNF\alpha$ unidas a una IgG1 humana. Los dominios ricos en cisteínas 2 y 3 (*cysteine-rich domain*, CRD) de las moléculas del receptor de $TNF\alpha$ que componen al etanercept son capaces de secuestrar dos moléculas de $TNF\alpha$. Esta unión bloquea la interacción de $TNF\alpha$ receptores de $TNF\alpha$ en la superficie de las células, lo cual evita la activación de su vía de señalización.³³ Entre otros agentes que inhiben la acción de $TNF\alpha$ que se han lanzado al mercado se encuentran infliximab (1999), adalimumab (2002) y golimumab (2009). Dentro de esta línea de tratamiento, otras terapias biológicas incluyen inhibidores de IL-1 (anakinra), agentes depletores de linfocitos B (rituximab) e inhibidores de IL-6 (tocilizumab), entre otros.^{12,34,35}

La desventaja de esta estrategia, sin embargo, radica en que el desarrollo y la producción de grandes cantidades de anticuerpos específicos para uso clínico es un proceso costoso y complejo³⁵ que acarrea consigo el riesgo de que su función se vea afectada al ser reconocidos por el sistema inmune,³⁶ ya que los anticuerpos terapéuticos pueden tener un potencial inmunogénico si algunos polimorfismos en las regiones constantes, denominados alotipos, son distintos en las inmunoglobulinas propias de la persona. Inclusive, la inmunosupresión asociada al uso de estos agentes biológicos se ha correlacionado con un incremento significativo en el riesgo de procesos infecciosos como la tuberculosis, así como a un mayor potencial de riesgo en el desarrollo de neoplasias, sobre todo de origen hematológico. Para atenuar este efecto inmunogénico, algunos autores han propuesto la incorporación de las secuencias de los alotipos del paciente a los anticuerpos terapéuticos.³⁷ Fischer y colaboradores reportaron el uso de dos tipos distintos de anticuerpos bivalentes anti- $TNF\alpha$ e IL-17 en cultivos primarios de sinoviocitos de tipo fibroblástico humanos de individuos con AR. Entre sus resultados, observaron un efecto sinérgico en cuanto a la regulación de los niveles de distintas citocinas como IL-6, IL-8, MMP-3 y G-CSF.³⁸

Terapias biotecnológicas: uso de terapias génicas

La terapia génica está siendo desarrollada como una alternativa de tratamiento biotecnológico más específica y eficiente que no requiere de la administración de dosis continuas, como en el caso de los DMARD, ya que permite la corrección a nivel molecular de la fisiopatología de la AR.³⁹ El uso de terapias génicas (*Cuadro V*) busca la regulación o corrección endógena de genes involucrados en la AR a partir de la expresión de un transgén terapéutico cuyos niveles automáticamente se ven reflejados en la disminución de la progresión de la enfermedad. En general, la administración *in situ* de estas técnicas permite localizar la acción terapéutica en la zona del daño.⁴⁰

Una primera alternativa de terapia génica es la administración de genes que codifican para proteínas terapéuticas en lugar de la administración en sí de las proteínas mismas, como en el caso de los agentes biológicos. El objetivo de este tipo de terapia radica en permitir la producción endógena de estos agentes, con lo que se potencia el tratamiento a largo plazo.⁴⁰

Otra segunda alternativa de terapia génica de uso actual es la tecnología de interferencia, la cual tiene por objetivo administrar moléculas de RNA pequeño interferente (*small interfering ribonucleic acid*, siRNA) en zonas específicas de inflamación. Con esto se logra la regulación endógena desde el nivel postranscripcional, disminuyendo la transcripción de cualquier gen blanco (es decir, obtener su «*knockdown*») de interés involucrado en el desarrollo de la AR.⁴¹ No obstante, el reto para el tratamiento con esta técnica es el diseño y la obtención de una manera segura y eficiente de entregar las moléculas siRNA mediante vectores especializados que selectivamente se acumulen en las articulaciones inflamadas. Para estos casos, el fenómeno de acumulación y aumento de permeabilidad denominado EPR (*enhanced permeability and retention effect*, EPR)⁴² juega un papel importante y debe estudiarse a conciencia para lograr un diseño de terapia exitoso. El EPR resulta de la debilitación de las uniones endoteliales estrechas a causa de la activación de factores de permeabilidad endotelial, favoreciendo la angiogénesis y la vascularidad porosa del tejido; es de especial interés en nanomedicina, ya que funciona como principio fundamental para la inclusión de nanopartículas en el tejido inflamado.⁴³

Un ejemplo más de terapia génica es la estrategia de salto de exón (mejor conocida como «*exon skipping*»). Esta metodología puede aplicarse en la AR para inducir la expresión de receptores solubles y reducir la expresión de receptores de membrana al usar oligonucleótidos antisentido orientados al exón del gen que codifica para la región transmembranal.³⁶ Para

lograr el salto del exón deseado, estas secuencias son dirigidas a sitios receptores y donadores dentro del intrón, o bien, a motivos potenciadores de la maduración (*exon splicing enhancers*, ESE) localizados dentro del exón de interés. Además, esta técnica es útil como terapia para padecimientos como la distrofia muscular de Duchenne y para el diseño de experimentos que contribuyan a un mejor entendimiento de la maduración del mRNA.⁴⁴

Finalmente, dado que el mayor reto actual consiste en identificar biomarcadores que permitan un diagnóstico más precoz de la patología,¹⁷ los miRNA han sido posicionados como objeto de estudio. Entre las nuevas dianas terapéuticas que han comenzado a ser estudiadas se encuentran el miRNA-155 y miRNA-223.

El miRNA-155 ha sido asociado a la patología de la AR pues se ha observado su sobreexpresión en la membrana sinovial y en los macrófagos del líquido sinovial de sujetos con AR. Este miRNA tiene como uno de sus objetivos la región 3' del gen de la inositol fosfatasa 1 con homología de Src (SHIP1), el cual ha sido reconocido como inhibidor de la inflamación, así como también otros mediadores inflamatorios como PU.1, AID, SMAD5 y SOCS1. Un estudio reciente empleó un vector lentiviral y la tecnología CRISPR-Cas9 para generar líneas celulares *knock-out* para miRNA-155 a partir de la línea de macrófagos RAW264.7. Estas líneas mostraron una disminución en la producción de las citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-6 e IL-12, lo cual implica una evolución favorable al disminuir la inflamación articular. Sin em-

Cuadro V. Compilación de estrategias de tratamiento basadas en nanopartículas y tecnología interferente.

Blanco terapéutico	Técnica	Modelo experimental	Resultados	Referencias
IL-1	<ol style="list-style-type: none"> 1. Uso de nanopartículas de PLGA para liberar IL-1ra (anakinra) con una cinética lineal <i>in situ</i> 2. Uso de oligonucleótidos antisentido (ASO) para inducir <i>exon skipping</i> del exón 9 de IL-1RAcP 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Cultivo primario de células del núcleo pulposo de columna vertebral bovina 2. Cultivos celulares de fibroblastos murinos y hepatocitos humanos 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Se observó una capacidad disminuida para regular la señalización por IL-1β después de los siete días. Se registraron aumentos de moléculas inflamatorias como MMP-13, INOS y ADAMTS-4 asociados al uso de las nanopartículas 2. La omisión del exón 9 lleva a la producción de una forma soluble de IL-1RAcP. Disminución en la señalización por IL-1 	1. ⁹⁴ 2. ³⁶
IL-23	Uso de shRNA dirigidos contra los RNAm de los factores de transcripción SMAD-3 y ATF-2	Línea celular RAW264.7 de macrófagos murinos	Expresión disminuida de p19 y, por lo tanto, de IL-23, aún ante estímulos inductores de IL-23 como infección con el virus de Thélér y ácido poliinosínico-policitidílico	¹⁰⁵
IL-32	Transfección con siRNA específico para la isoforma IL-32 γ	Cultivo primario de sinoviocitos de tipo fibroblástico de pacientes con AR	Reducción de los niveles de IL-6 y CXCL8, aún tras estimulación con TNF- α	¹⁰⁶
TNF α	Administración intravenosa con nanopartículas de glicol quitosano tiolado portadoras de un siRNA para TNF α	Ratones DBA/I con CIA	Reducción considerable de la inflamación observada en las patas de los ratones. Prevención de la erosión y pérdida de volumen óseo	⁴²

bargo, también presentaron un aumento de la actividad de la fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP), la cual funge como marcador de osteoclastogénesis, lo cual indica que el desgaste del hueso podría ser una consecuencia inminente bajo este tratamiento. Dado que la osteoclastogénesis es un evento importante en la patogénesis de la AR, el uso del miRNA-155 representa una desventaja con fines terapéuticos.⁴⁵

En cuanto al miRNA-223, este actúa como regulador de la diferenciación de células mieloides y se ha reportado su sobreexpresión en sinoviocitos de tipo fibroblástico (*fibroblast-like synoviocytes*, FLS), líquido sinovial y células T *naïve* CD4+. El miRNA-223 reprime la expresión del factor nuclear 1A (NF1A), lo cual promueve la expresión del receptor del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSFR) y, con ello, la diferenciación de osteoclastos. Li y su grupo emplearon un vector lentiviral para expresar la secuencia complementaria de miRNA-223 e inhibir su actividad en un modelo murino de artritis inducida por colágeno (*collagen-induced arthritis*, CIA). Sus resultados muestran que la sobreexpresión del miRNA-223 en los individuos con CIA disminuye la osteoclastogénesis de macrófagos derivados de médula ósea y lleva a una mejoría de los signos clínicos de la CIA.⁴⁶

Adicionalmente, Xue y colaboradores diseñaron un plásmido codificante de la secuencia complementaria del mRNA del factor de transcripción T-bet específico para linfocitos T_H1 responsables de la secreción de IFN- γ . El plásmido recombinante p-T-shRNA fue inyectado *in situ* en articulaciones dañadas en modelos murinos de artritis inducidas por colágeno. Los resultados demostraron que la administración del shRNA redujo la expresión tanto de IL-17 como de IFN- γ , por lo que tiene el potencial de ser una terapia contra la AR.⁴⁷ En fechas recientes, también se ha explorado la administración de shRNA que reducen los niveles de Ca²⁺ citosólico en modelos murinos de CIA al bloquear la transcripción del gen de canales liberadores de calcio (CRACM3) a través de un sistema de administración lentiviral.⁴⁸

Propuestas innovadoras de terapias biotecnológicas

Otros blancos terapéuticos y el uso de nanopartículas

Queda claro que las terapias dirigidas a la regulación de citocinas no tienen por qué ser las únicas aproximaciones empleadas para el tratamiento de la AR.⁴¹ Dos blancos terapéuticos que han despertado interés en cuanto a su papel en la patología son el activador de tipo

urocinasa del plasminógeno (*urokinase plasminogen activator*, uPA) y el factor de transcripción c-Myc. uPA es una proteína compuesta por 431 aminoácidos, con un peso molecular aproximado de 48 kDa, codificada en el cromosoma 10, brazo largo, banda 22⁴⁹ y se ha observado un incremento tanto en su actividad como en su expresión en personas con AR.⁵⁰ La unión de uPA a su receptor, uPAR, es un mecanismo importante en la regulación de la proteólisis de la matriz extracelular a través de plasmina, la cual, a su vez, activa metaloproteinasas de la matriz como MMP3, MMP9, MMP12 y MMP13. Además, uPA tiene la capacidad de inducir la producción de IL-6, IL-1 β y TNF α .^{51,52}

Por su parte, c-Myc es un regulador de la proliferación de sinoviocitos y la vía de apoptosis cuya sobreexpresión se ha reportado en casos de AR.⁵³ Estos factores son importantes porque se ha reportado que la hiperplasia sinovial característica de la AR lleva a la invasión de la cavidad articular y la subsecuente erosión de cartílago y hueso.⁵¹ En este sentido, es importante investigar más sobre opciones para lograr la regulación conjunta de la expresión de estas proteínas, posiblemente a través de tecnología de RNA de interferencia que garantice una transfección estable, como los shRNA. Así mismo, es importante considerar que una aproximación terapéutica de este estilo requiere de vehículos que logren una transfección específica de los sinoviocitos.

Una solución a esta problemática podría lograrse a partir del uso de nanopartículas poliméricas (NP) (p. ej. quitosano), ya que ofrecen una gran versatilidad en cuanto al uso de materiales biodegradables y la adición de ligandos para conferirles especificidad. Durante las últimas décadas, las NP han sido investigadas con amplitud en el área farmacéutica como sistemas de liberación de principios activos, sobre todo debido a que pueden mejorar la estabilidad, la biodisponibilidad y el direccionamiento de fármacos a un sitio blanco, ya que facilitan la entrada y mejoran la interacción con los sustratos biológicos.⁵⁴ Sin embargo, aún no se ha reportado el uso de nanopartículas para entregar material genético hasta el núcleo de sinoviocitos. Un candidato posible para funcionar como ligando que permita la internalización del contenido de la partícula hasta el núcleo es el factor básico de crecimiento de fibroblastos (*basic fibroblast growth factor*, bFGF), ya que sus vías de internalización caveola-dependiente hasta el núcleo han sido estudiadas a detalle y pueden constituir parte de la estrategia terapéutica dirigida en aquellas proteínas que usen este sistema.⁵⁵

Adicionalmente, una terapia de este tipo llevaría a una mejora a largo plazo gracias a la disminución de la degradación del cartílago y la producción de citocinas

inflamatorias. De igual manera, una gran ventaja que presentaría un abordaje *in situ* como este es que no afectaría a las células del sistema inmunológico localizadas fuera de la articulación y, con ello, se evitaría exponer al paciente ante infecciones por patógenos oportunistas, a diferencia de algunas terapias que se aplican hoy en día, como los DMARD convencionales o biológicos. Se considera, entonces, que una terapia basada en la administración de un shRNA para la desregulación de expresión de uPAR y c-Myc en sinoviocitos mediante una NP biodegradable de quitosán y de alta selectividad podría ser capaz de disminuir la degradación del cartílago y el daño inflamatorio articular que forman parte clave del esquema fisiopatológico de la AR. No obstante, dada la novedad de esta propuesta, sería necesario profundizar en la investigación y diseñar ensayos preclínicos que corroboren esta hipótesis, así como el uso de diferentes polímeros biodegradables.

La vía del receptor transmembranal de Notch 1 ha sido en fechas recientes asociada con la prognosis de la artritis reumatoide. Se ha demostrado que Notch 1, como receptor transmembranal, juega un papel importante en la regulación de la respuesta inflamatoria en la artritis reumatoide, ya que los receptores de la vía de Notch 1 se encuentran sobreexpresados en los FLS de individuos con artritis reumatoide, lo que promueve la inflamación y la angiogénesis.⁵⁶ Se ha logrado disminuir la secreción de la interleucina proinflamatoria IL-6 y metaloproteinasas en FLS en modelos murinos de artritis inducida por colágeno tras bloquear la vía de Notch 1.⁵⁷

La tecnología interferente promete ser la estrategia terapéutica que aterrice a la genética como remedio para múltiples patologías. Dentro de esta rama, los oligonucleótidos antisentido, en particular los siRNA, se perfilan como un prometedor tratamiento dada su especificidad del 100% con el blanco terapéutico particular. Estas moléculas de RNA doble cadena actúan como un mecanismo postranscripcional que silencia al mRNA del gen en cuestión. Sin embargo, en la AR, el éxito de esta terapia radica en la eficiencia de la administración *in vivo* del siRNA al tejido enfermo por medio de infiltración local en la articulación inflamada, lo que aumenta la biodisponibilidad de la secuencia antisentido en la cavidad articular. Dada la carga eléctrica negativa de los ácidos nucleicos, la asociación del siRNA con un polímero catiónico con un marcador biológico dirigido a su blanco se perfila como un vehículo viable.⁵⁸ Por lo tanto, un fármaco cuyo vehículo fuese una nanopartícula polimérica que se asocia con facilidad con la secuencia silenciadora del receptor Notch 1 y selectivo para FLS podría impedir

la prognosis de la inflamación en articulaciones con AR mediante la degradación complementaria con el mRNA del receptor transmembranal.⁵⁹

Conclusiones

Hasta el momento, el tipo de terapia contra AR administrada depende de la gravedad de la patología en el sujeto, así como de sus posibles contraindicaciones y costos. Sin embargo, cambiar este esquema debe ser uno de los principales objetivos en la agenda de la investigación básica de la AR.¹³ El principal reto en el desarrollo de terapias biotecnológicas para la AR consta en diseñar un tratamiento que sea viable y seguro a largo plazo, que sobrepase drásticamente los resultados que ahora se observan a través de los DMARD convencionales y biológicos ya conocidos, y que, al mismo tiempo, sea capaz de inducir reparación del tejido articular y su función. La mayoría de los abordajes actuales han lidiado con la inflamación generada por una respuesta autoinmune o solamente con la degradación del cartílago. Muy poco se ha hecho en cuanto a reparar el tejido; esto es, en parte, debido a la falta de modelos animales apropiados para probar estas terapias novedosas.⁷ Juntar los nuevos avances en regulación transcripcional mediante vectores no inmunogénicos con nuevas terapias construidas en diseños de ingeniería genética, así como los últimos avances en investigación de células madre, podría traer mejoras a las metodologías actuales. La esperanza radica en que la terapia biotecnológica brinde beneficio a largo plazo a los enfermos de artritis reumatoide una vez que la seguridad, las consideraciones médicas y las implicaciones éticas hayan sido resueltas.³⁹

Finalmente, una característica en común de todas las aproximaciones revisadas con anterioridad es que representan opciones no curativas. Dado que la AR es un padecimiento incapacitante, es importante continuar las investigaciones referentes a la patogenia de la misma. Lo anterior permitirá tener un mejor entendimiento del mecanismo molecular e identificar nuevos marcadores cuya regulación ofrezca mejores resultados y mayor seguridad para los pacientes a través de nuevos tratamientos biotecnológicos no invasivos. De la misma manera, el diseño de terapias dirigidas a combinaciones de blancos terapéuticos podría llevar a un aumento de la calidad de vida de los individuos y una mejor prognosis.

Agradecimientos. Agradecemos al Dr. J. Magaña por su dedicación como profesor y guía tanto en este proyecto como en nuestro curso de Proyecto en Terapias

Biocientíficas. Su apoyo, conocimiento y motivación contribuyeron en gran medida al desarrollo exitoso de este proyecto y a nuestra formación como científicos profesionales del campo de la salud. De igual modo, damos gracias al Dr. RB Muñoz por su interés y dedicación como guía de este proyecto.

Reconocemos en especial a la Dra. D Gómez por su particular contribución a la revisión de este proyecto. Sus observaciones sobre la redacción, el enfoque y el contenido de este artículo han enriquecido nuestro trabajo de forma exponencial y nos han impulsado a querer seguir trabajando en investigación en ciencias de la salud.

Bibliografía

- Barrera-Cruz A, Beltrán Castillo D, Blanco-Favela D, Flores-Aguilar D, Jara-Quezada D, Neri-Gómez, D et al. Diagnóstico y tratamiento de artritis reumatoide del adulto. Sistema Nacional de Salud. México: Gobierno Federal; 2010.
- Traister R, Hirsch R. Gene therapy for arthritis. *Mod Rheumatol*. 2008; 18 (1): 2-14.
- WHO. Chronic rheumatic conditions. World Health Organization; 2015. [Recuperado el 20 de noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.who.int/chp/topics/rheumatic/en/>
- Secretaría de Salud. Diagnóstico y tratamiento de artritis reumatoide del adulto. CENETEC, Gobierno Federal; 2010. [Recuperado el 25 de febrero de 2017]. Disponible en: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/195_ARTRITIS_REUMATOIDE/Artritis_reumatoide_EVR_CENETEC.pdf
- Vandever L. Rheumatoid arthritis by the numbers: facts, statistics, and you. *Healthline*; 2014. [Recuperado el 20 de noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.healthline.com/health/rheumatoid-arthritis/facts-statistics-infographic>
- Cardiel MH, Díaz-Borjón A, Vázquez del Mercado Espinosa M, Gámez-Nava JI, Barile-Fabris LA, Pacheco-Tena C et al. Actualización de la Guía mexicana para el tratamiento farmacológico de la artritis reumatoide del Colegio Mexicano de Reumatología. *Reumatol Clin*. 2013; 10 (4): 227-240.
- Smolen J, Steiner G. Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Drug Discov*. 2003; 2 (6): 473-488.
- Belmonte-Serrano MA. ¿Es la puntuación DAS28 el método más adecuado para estimar la actividad de la artritis reumatoide? Consideraciones clínicas y escenarios de simulación. *Reumatol Clin*. 2008; 4 (5): 183-190.
- American College of Rheumatology, Clinical Disease Activity Index (CDAI). (s. f.). American College of Rheumatology [Recuperado el 19 de septiembre de 2016]. Disponible en: <http://www.rheumatology.org/Learning-Center/Glossary/ArticleType/ArticleView/ArticleID/423>
- McInnes IB, Schett G. Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Immunol*. 2007; 7 (6): 429-442.
- Ranganath VK, Khanna D, Paulus HE. ACR remission criteria and response criteria. *Clin Exp Rheumatol*. 2006; 24 (6 Suppl. 43): S14-S21.
- Choy E. Understanding the dynamics: pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2012; 51 Suppl 5: v3-v11.
- Smolen JS, Aletaha D, Koeller M, Weisman MH, Emery P. New therapies for treatment of rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2007; 370 (9602): 1861-1874.
- López-Lasanta M, Julià A, Maymó J, Fernández-Gutiérrez B, Ureña-Garnica I, Blanco FJ et al. Variation at interleukin-6 receptor gene is associated to joint damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2015; 17: 242.
- Suzuki A, Kochi Y, Okada Y, Yamamoto K. Insight from genome-wide association studies in rheumatoid arthritis and multiple sclerosis. *FEBS Lett*. 2011; 585 (23): 3627-3632.
- Nakajima A. Application of cellular gene therapy for rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol*. 2006; 16 (5): 269-275.
- Sánchez-Ramón S, López-Longo FJ, Carreño L. Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. *Reumatol Clin*. 2011; 6 (S3): S20-S24.
- Al-Saeed A. Gastrointestinal and cardiovascular risk of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Oman Med J*. 2011; 26 (6): 385-391.
- Wienecke T, Gøtzsche PC. Paracetamol versus nonsteroidal anti-inflammatory drugs for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004; (1): CD003789.
- Guzmán R, Restrepo J. Artritis reumatoide temprana. *Rev Colomb Reumatol*. 2002; 9 (3): 171-175.
- Wilkie WS, Schwieterman P. Strategies for the management of rheumatoid arthritis. *Orthopedics*. 2012; 35 (2): 125-130.
- Tian H, Cronstein BN. Understanding the mechanisms of action of methotrexate: implications for the treatment of rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2007; 65 (3): 168-173.
- Hernandez-Baldizon S. ¿Cómo hacer buen uso del metotrexato en artritis reumatoide? *Reumatol Clin*. 2012; 8 (1): 42-45.
- Provenzano G. Chronic pulmonary toxicity of methotrexate and rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2003; 42 (6): 802-803; author reply 803-804.
- Roubille C, Haraoui B. Interstitial lung diseases induced or exacerbated by DMARDs and biologic agents in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Semin Arthritis Rheum*. 2014; 43 (5): 613-626.
- Dawson JK, Graham DR, Desmond J, Fewins HE, Lynch MP. Investigation of the chronic pulmonary effects of low-dose oral methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study incorporating HRCT scanning and pulmonary function tests. *Rheumatology (Oxford)*. 2002; 41 (3): 262-267.
- Buchbinder R, Barber M, Heuzenroeder L, Wluka AE, Giles G, Hall S et al. Incidence of melanoma and other

- malignancias among rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. *Arthritis Rheum.* 2008; 59 (6): 794-799.
28. Osuga T, Ikura Y, Kadota C, Hirano S, Iwai Y, Hayakumo T. Significance of liver biopsy for the evaluation of methotrexate-induced liver damage in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8 (2): 1961-1966.
 29. McCurry J. Japan deaths spark concerns over arthritis drug. *Lancet.* 2004; 363 (9407): 461.
 30. Sakai F, Noma S, Kurihara Y, Yamada H, Azuma A, Kudoh S et al. Leflunomide-related lung injury in patients with rheumatoid arthritis: imaging features. *Mod Rheumatol.* 2005; 15 (3): 173-179.
 31. Suissa S, Hudson M, Ernst P. Leflunomide use and the risk of interstitial lung disease in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006; 54 (5): 1435-1439.
 32. Levine SJ. Mechanisms of soluble cytokine receptor generation. *J Immunol.* 2004; 173 (9): 5343-5348.
 33. Hu S, Liang S, Guo H, Zhang D, Li H, Wang X et al. Comparison of the inhibition mechanisms of adalimumab and infliximab in treating tumor necrosis factor α -associated diseases from a molecular view. *J Biol Chem.* 2013; 288 (38): 27059-27067.
 34. Llord de la Mata J, González-Crespo R, Maese-Manzano J. Tratamiento de la artritis reumatoide con anakinra: revisión sistemática. *Reumatol Clin.* 2007; 3 (4): 153-158.
 35. Van Vollenhoven RF. Treatment of rheumatoid arthritis: state of the art 2009. *Nat Rev Rheumatol.* 2009; 5 (10): 531-541.
 36. Yilmaz-Elis S, Aartsma-Rus A, Vroon A, van Deutekom J, de Kimpe S, 't Hoen PA et al. Antisense oligonucleotide mediated exon skipping as a potential strategy for the treatment of a variety of inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2012; 71 Suppl 2: i75-i77.
 37. Jefferis R, Lefranc MP. Human immunoglobulin allotypes: possible implications for immunogenicity. *MAbs.* 2009; 1 (4): 332-338.
 38. Fischer JA, Hueber AJ, Wilson S, Galm M, Baum W, Kitson C et al. Combined inhibition of tumor necrosis factor α and interleukin-17 as a therapeutic opportunity in rheumatoid arthritis: development and characterization of a novel bispecific antibody. *Arthritis Rheumatol.* 2015; 67 (1): 51-62.
 39. Robbins PD, Evans CH, Chernajovsky Y. Gene therapy for arthritis. *Gene Ther.* 2003; 10 (10): 902-911.
 40. Evans CH, Robbins PD, Ghivizzani SC, Wasko MC, Tomaino MM, Kang R et al. Gene transfer to human joints: progress toward a gene therapy of arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102 (24): 8698-8703.
 41. Apparailly F, Jorgensen C. siRNA-based therapeutic approaches for rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2013; 9 (1): 56-62.
 42. Lee SJ, Lee A, Hwang SR, Park JS, Jang J, Huh MS et al. TNF- α gene silencing using polymerized siRNA/thiolated glycol chitosan nanoparticles for rheumatoid arthritis. *Mol Ther.* 2014; 22 (2): 397-408.
 43. Nehoff H, Parayath NN, Domanovitch L, Taurin S, Greish K. Nanomedicine for drug targeting: strategies beyond the enhanced permeability and retention effect. *Int J Nanomedicine.* 2014; 9: 2539-2555.
 44. Aartsma-Rus A, van Ommen GJ. Antisense-mediated exon skipping: a versatile tool with therapeutic and research applications. *RNA.* 2007; 13 (10): 1609-1624.
 45. Jing W, Zhang X, Sun W, Hou X, Yao Z, Zhu Y. CRISPR/CAS9-mediated genome editing of miRNA-155 inhibits proinflammatory cytokine production by RAW264.7 cells. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 326042.
 46. Li YT, Chen SY, Wang CR, Liu MF, Lin CC, Jou IM et al. Brief report: amelioration of collagen-induced arthritis in mice by lentivirus-mediated silencing of microRNA-223. *Arthritis Rheum.* 2012; 64 (10): 3240-3245.
 47. Xue Y, Yang Y, Su Z, Barnie PA, Zheng D, Zhang Y et al. Local delivery of T-bet shRNA reduces inflammation in collagen II-induced arthritis via downregulation of IFN- γ and IL-17. *Mol Med Rep.* 2014; 9 (3): 899-903.
 48. Liu S, Kiyoi T, Takemasa E, Maeyama K. Systemic lentivirus-mediated delivery of short hairpin RNA targeting calcium release-activated calcium channel 3 as gene therapy for collagen-induced arthritis. *J Immunol.* 2015; 194 (1): 76-83.
 49. Weizmann Institute of Science. PLAU Gene (Protein Coding) Plasminogen Activator, Urokinase. GeneCards; 2015 [Recuperado el 26 de noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=PLAU>
 50. Jin T, Tarkowski A, Carmeliet P, Bokarewa M. Urokinase, a constitutive component of the inflamed synovial fluid, induces arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2003; 5 (1): R9-R17.
 51. Serrati S, Margheri F, Chillà A, Neumann E, Müller-Ladner U, Benucci M et al. Reduction of *in vitro* invasion and *in vivo* cartilage degradation in a SCID mouse model by loss of function of the fibrinolytic system of rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2011; 63 (9): 2584-2594.
 52. Smith HW, Marshall CJ. Regulation of cell signalling by uPAR. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010; 11 (1): 23-36.
 53. Pap T, Müller-Ladner U, Gay RE, Gay S. Fibroblast biology. Role of synovial fibroblasts in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2000; 2 (5): 361-367.
 54. Naranjos-Ramírez N, Torres-Cantú D, Castillo-Rodríguez V, Galindo-Rodríguez G, Chávez-Montes A, Castro-Ríos R et al. Preparación de nanopartículas poliméricas con aplicación farmacéutica usando técnicas basadas en emulsificación. *Revista Mexicana de Física.* 2011; 57 (2): 41-43.
 55. Reilly JF, Mizukoshi E, Maher PA. Ligand dependent and independent internalization and nuclear translocation of fibroblast growth factor (FGF) receptor 1. *DNA Cell Biol.* 2004; 23 (9): 538-548.
 56. Dolati S, Sadreddini S, Rostamzadeh D, Ahmadi M, Jadidi-Niaragh F, Yousefi M. Utilization of nanoparticle technology in rheumatoid arthritis treatment. *Biomed Pharmacother.* 2016; 80: 30-41.

57. Kim MJ, Park JS, Lee SJ, Jang J, Park JS, Back SH et al. Notch1 targeting siRNA delivery nanoparticles for rheumatoid arthritis therapy. *J Control Release*. 2015; 216: 140-148.
58. Son S, Song S, Lee SJ, Min S, Kim SA, Yhee JY et al. Self-crosslinked human serum albumin nanocarriers for systemic delivery of polymerized siRNA to tumors. *Biomaterials*. 2013; 34 (37): 9475-9485.
59. Peng SF, Tseng MT, Ho YC, Wei MC, Liao ZX, Sung HW. Mechanisms of cellular uptake and intracellular trafficking with chitosan/DNA/poly(γ -glutamic acid) complexes as a gene delivery vector. *Biomaterials*. 2011; 32 (1): 239-248.
60. Arend WP, Guthridge CJ. Biological role of interleukin 1 receptor antagonist isoforms. *Ann Rheum Dis*. 2000; 59 Suppl. 1: i60-i64.
61. Gabay C, Arend WP. Treatment of rheumatoid arthritis with IL-1 inhibitors. *Springer Semin Immunopathol*. 1998; 20 (1-2): 229-246.
62. Kanangat S, Postlethwaite AE, Higgins GC, Hasty KA. Novel functions of intracellular IL-1ra in human dermal fibroblasts: implications in the pathogenesis of fibrosis. *J Invest Dermatol*. 2006; 126 (4): 756-765.
63. Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: regulators of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2010; 10 (2): 89-102.
64. Taylor SL, Renshaw BR, Garka KE, Smith DE, Sims JE. Genomic organization of the interleukin-1 locus. *Genomics*. 2002; 79 (5): 726-733.
65. Srirangan S, Choy EH. The role of interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2010; 2 (5): 247-256.
66. Flores-García Y, Talamás-Rohana P. Interleucina 17, funciones biológicas y su receptor. *Rev Educ Bioquímica*. 2012; 31 (1): 3-9.
67. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, Nakae S. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity*. 2011; 34 (2): 149-162.
68. McInnes IB, Liew FY, Gracie JA. Interleukin-18: a therapeutic target in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther*. 2005; 7 (1): 38-41.
69. Nolan KF, Greaves DR, Waldmann H. The human interleukin 18 gene IL18 maps to 11q22.2-q22.3, closely linked to the DRD2 gene locus and distinct from mapped IDDM loci. *Genomics*. 1998; 51 (1): 161-163.
70. Faragó B, Magyari L, Sáfrány E, Csöngéi V, Járomi L, Horvatovich K et al. Functional variants of interleukin-23 receptor gene confer risk for rheumatoid arthritis but not for systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*. 2008; 67 (2): 248-250.
71. Orozco G, Rueda B, Robledo G, García A, Martín J. Investigation of the IL23R gene in a Spanish rheumatoid arthritis cohort. *Hum Immunol*. 2007; 68 (8): 681-684.
72. Park JH, Kim YJ, Park BL, Bae JS, Shin HD, Bae SC. Lack of association between interleukin 23 receptor gene polymorphisms and rheumatoid arthritis susceptibility. *Rheumatol Int*. 2009; 29 (7): 781-786.
73. Rong C, Hu W, Wu FR, Cao XJ, Chen FH. Interleukin-23 as a potential therapeutic target for rheumatoid arthritis. *Mol Cell Biochem*. 2012; 361 (1-2): 243-248.
74. Eken A, Singh A, Oukka M. Interleukin 23. In: *Encyclopedia of inflammatory diseases*. Basel, Suiza: Springer Basel; 2015. pp. 1-10.
75. Gong F, Pan YH, Huang X, Chen J, Xiao JH, Zhu HY. Interleukin-27 as a potential therapeutic target for rheumatoid arthritis: has the time come? *Clin Rheumatol*. 2013; 32 (10): 1425-1428.
76. Pickens SR, Chamberlain ND, Volin MV, Mandelin AM 2nd, Agrawal H, Matsui M et al. Local expression of interleukin-27 ameliorates collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*. 2011; 63 (8): 2289-2298.
77. Bosmann M, Ward PA. Modulation of inflammation by interleukin-27. *J Leukoc Biol*. 2013; 94 (6): 1159-1165.
78. Heinhuis B, Koenders ML, van de Loo FA, Netea MG, van den Berg WB, Joosten LA. Inflammation-dependent secretion and splicing of IL-32{gamma} in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108 (12): 4962-4967.
79. Kang JW, Park YS, Lee DH, Kim MS, Bak Y, Ham SY et al. Interaction network mapping among IL-32 isoforms. *Biochimie*. 2014; 101: 248-251.
80. Khawar B, Abbasi MH, Sheikh N. A panoramic spectrum of complex interplay between the immune system and IL-32 during pathogenesis of various systemic infections and inflammation. *Eur J Med Res*. 2015; 20: 7.
81. Kim S. Interleukin-32 in inflammatory autoimmune diseases. *Immune Netw*. 2014; 14 (3): 123-127.
82. Ning X, Jian Z, Wang W. Low serum levels of interleukin 35 in patients with rheumatoid arthritis. *Tohoku J Exp Med*. 2015; 237 (2): 77-82.
83. Šenolt L, Šumová B, Jandová R, Hulejová H, Mann H, Pavelka K et al. Interleukin 35 synovial fluid levels are associated with disease activity of rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2015; 10 (7): e0132674.
84. Posadas-Sánchez R, Pérez-Hernández N, Ángeles-Martínez J, López-Bautista F, Villarreal-Molina T, Rodríguez-Pérez J et al. Interleukin 35 polymorphisms are associated with decreased risk of premature coronary artery disease, metabolic parameters, and IL-35 levels: the genetics of atherosclerotic disease (GEA) study. *Mediators of Inflammation*. 2017; 2017: ID 6012795.
85. Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Botsios C, Carletto A, Cipriani P, Favalli EG et al. Long-term anti-TNF therapy and the risk of serious infections in a cohort of patients with rheumatoid arthritis: comparison of adalimumab, etanercept and infliximab in the GISEA registry. *Autoimmun Rev*. 2012; 12 (2): 225-229.
86. Bradley JR. TNF-mediated inflammatory disease. *J Pathol*. 2008; 214 (2): 149-160.
87. Marenco de la Fuente J, Solís-Díaz R. Antagonistas del TNF. Nuevos datos de eficacia. *Reumatol Clin*. 2009; 5 Supl 1: 71-76.
88. Nie H, Zheng Y, Li R, Guo TB, He D, Fang L et al. Phosphorylation of FOXP3 controls regulatory T cell function and is inhibited by TNF α in rheumatoid arthritis. *Nat Med*. 2013; 19 (3): 322-328.
89. Rego-Pérez I, Fernández-Moreno M, Blanco FJ. Gene polymorphisms and pharmacogenetics in rheumatoid arthritis. *Curr Genomics*. 2008; 9 (6): 381-393.

90. Park JS, Kwok SK, Lim MA, Oh HJ, Kim EK, Jhun JY et al. TWEAK promotes osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis. *Am J Pathol.* 2013; 183 (3): 857-867.
91. Bhattacharjee M, Raju R, Radhakrishnan A, Nanjappa V, Muthusamy B, Singh K et al. A bioinformatics resource for TWEAK-Fn14 signaling pathway. *J Signal Transduct.* 2012; 2012: 376470.
92. Dillon SR, Gross JA, Ansell SM, Novak AJ. An APRIL to remember: novel TNF ligands as therapeutic targets. *Nat Rev Drug Discov.* 2006; 5 (3): 235-246.
93. Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P et al. BlyS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science.* 1999; 285 (5425): 260-263.
94. Gorth DJ, Mauck RL, Chiaro JA, Mohanraj B, Hebel NM, Dodge GR et al. IL-1ra delivered from poly(lactico-glycolic acid) microspheres attenuates IL-1 β -mediated degradation of nucleus pulposus *in vitro*. *Arthritis Res Ther.* 2012; 14 (4): R179.
95. Cohen SB, Moreland LW, Cush JJ, Greenwald MW, Block S, Shergy WJ et al. A multicentre, double blind, randomised, placebo controlled trial of anakinra (Kineret), a recombinant interleukin 1 receptor antagonist, in patients with rheumatoid arthritis treated with background methotrexate. *Ann Rheum Dis.* 2004; 63 (9): 1062-1068.
96. Maini RN, Taylor PC, Szechinski J, Pavelka K, Bröll J, Balint G et al. Double-blind randomized controlled clinical trial of the interleukin-6 receptor antagonist, tocilizumab, in European patients with rheumatoid arthritis who had an incomplete response to methotrexate. *Arthritis Rheum.* 2006; 54 (9): 2817-2829.
97. Mease P, Strand V, Shalamberidze L, Dimic A, Raskina T, Xu LA et al. A phase II, double-blind, randomised, placebo-controlled study of BMS945429 (ALD518) in patients with rheumatoid arthritis with an inadequate response to methotrexate. *Ann Rheum Dis.* 2012; 71 (7): 1183-1189.
98. Kellner H. Targeting interleukin-17 in patients with active rheumatoid arthritis: rationale and clinical potential. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2013; 5 (3): 141-152.
99. Genovese MC, Durez P, Richards HB, Supronik J, Dokoupilova E, Mazurov V et al. Efficacy and safety of secukinumab in patients with rheumatoid arthritis: a phase II, dose-finding, double-blind, randomised, placebo controlled study. *Ann Rheum Dis.* 2013; 72 (6): 863-869.
100. Genovese MC, Greenwald M, Cho CS, Berman A, Jin L, Cameron GS et al. A phase 2 study of multiple subcutaneous doses of LY2439821, an anti-IL-17 monoclonal antibody, in patients with rheumatoid arthritis in two populations: nave to biologic therapy or inadequate responders to tumor necrosis factor alpha inhibitors. *Arthritis Rheumatism.* 2011; 63 (Supl. 10): 2591.
101. Pavelka K, Chon Y, Newmark R, Erond N, Lin S. A randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose study to evaluate the safety, tolerability, and efficacy of brodalumab (AMG 827) in subjects with rheumatoid arthritis and an inadequate response to methotrexate. *Arthritis & Rheumatology.* 2012; 64 (Supl. 10): 831.
102. Plater-Zyberk C, Joosten LA, Helsen MM, Sattoune-Roche P, Siegfried C, Alouani S et al. Therapeutic effect of neutralizing endogenous IL-18 activity in the collagen-induced model of arthritis. *J Clin Invest.* 2001; 108 (12): 1825-1832.
103. Qian X, Ning H, Zhang J, Hoft DF, Stumpo DJ, Blackshear PJ et al. Posttranscriptional regulation of IL-23 expression by IFN-gamma through tristetraprolin. *J Immunol.* 2011; 186 (11): 6454-6464.
104. Al-Salleeh F, Petro TM. Promoter analysis reveals critical roles for SMAD-3 and ATF-2 in expression of IL-23 p19 in macrophages. *J Immunol.* 2008; 181 (7): 4523-4533.
105. Niedbala W, Cai B, Wei X, Patakas A, Leung BP, McInnes IB et al. Interleukin 27 attenuates collagen-induced arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2008; 67 (10): 1474-1479.
106. Heinhuis B, Koenders MI, van Riel PL, van de Loo FA, Dinarello CA, Netea MG et al. Tumour necrosis factor alpha-driven IL-32 expression in rheumatoid arthritis synovial tissue amplifies an inflammatory cascade. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70 (4): 660-667.
107. Thiolat A, Denys A, Petit M, Biton J, Lemeiter D, Herve R et al. Interleukin-35 gene therapy exacerbates experimental rheumatoid arthritis in mice. *Cytokine.* 2014; 69 (1): 87-93.
108. Kochetkova I, Golden S, Holderness K, Callis G, Pascual DW. IL-35 stimulation of CD39+ regulatory T cells confers protection against collagen II-induced arthritis via the production of IL-10. *J Immunol.* 2010; 184 (12): 7144-7153.
109. Wisniacki N, Amaravadi L, Galluppi GR, Zheng TS, Zhang R, Kong J et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of anti-TWEAK monoclonal antibody in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Ther.* 2013; 35 (8): 1137-1149.
110. Tak PP, Thurlings RM, Rossier C, Nestorov I, Dimic A, Mircetic V et al. Atacept in patients with rheumatoid arthritis: results of a multicenter, phase Ib, double-blind, placebo-controlled, dose-escalating, single- and repeated-dose study. *Arthritis Rheum.* 2008; 58 (1): 61-72.
111. Qandil AM. Prodrugs of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), more than meets the eye: a critical review. *Int J Mol Sci.* 2012; 13 (12): 17244-17274.
112. Crofford LJ. Use of NSAIDs in treating patients with arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2013; 15 Supl. 3: S2.
113. Wishart DS, Knox C, Guo AC, Shrivastava S, Hassanali M, Stothard P et al. DrugBank: a comprehensive resource for in silico drug discovery and exploration. *Nucleic Acids Res.* 2006; 34 (Database issue): D668-D672.
114. Pawade R, Bhalerao P, Kunkulol R, Kute N. Disease-modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) used for rheumatoid arthritis —a review. *Indian Journal of Basic and Applied Medical Research.* 2015; 4 (3): 272-288.
115. Equipo de Redacción de IQB [23 de diciembre de 2010]. Aurotioglucosa. Instituto Químico Biológico [Recuperado el 26 de noviembre de 2015]. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/a074.htm>
116. Arthritis. *Nature Biotechnology.* 2000; 18: IT12-IT14.