



**Centro de Investigación en Alimentación y
Desarrollo, A.C.**

**LA INFLAMACIÓN ARTICULAR DE PACIENTES CON
ARTRITIS REUMATOIDE PODRÍA EXACERBARSE POR LA
RESPUESTA INMUNE A LA INGESTIÓN DE TRIGO**

Por:

Diego Javier Brambila López

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE NUTRICIÓN

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Diego Javier Brambila López la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



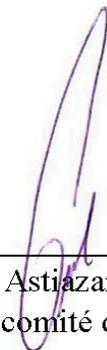
Dra. Ana María Calderón de la Barca
Directora de tesis



Dra. Verónica Mata Haro
Integrante de comité de tesis



Dra. Sandra V. Aguayo Patrón
Integrante de comité de tesis



Dr. Humberto F. Astiázarán García
Integrante de comité de tesis

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “La Inflamación Articular de Pacientes con Artritis Reumatoide podría Exacerbarse por la Respuesta Inmune a la Ingestión de Trigo” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor Diego Javier Brambila López, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director(a) de tesis.



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.**
Coordinación de Programas Académicos

Dr. Pablo Wong González
Director General

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado durante la realización del posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., por el apoyo económico y por abrirme las puertas para continuar con mi preparación académica.

A la Dra. Ana María Calderón de la Barca por abrirme las puertas de su laboratorio desde el primer día, dejarme escoger y trabajar un tema de mi agrado, las enseñanzas, confianza, paciencia y todas las facilidades otorgadas para la terminación de este trabajo. Gracias por ser guía y mentora, le estaré agradecido siempre.

A mis pacientes por su participación, cooperación, paciencia, y disposición al momento de solicitarles una muestra o hacerles una simple pregunta, sin ustedes este trabajo no hubiera sido posible.

A mi comité de tesis:

Dra. Verónica Mata por ayudarme a resolver dudas, las asesorías y por el apoyo técnico.

Dra. Sandra Aguayo por las enseñanzas, disposición y enorme apoyo técnico en lo experimental.

Dr. Humberto Astiazarán por facilitarnos equipo de laboratorio en la parte experimental y por sus valiosas aportaciones.

A Q.B. Rene Valenzuela, M.C. Adriana Bolaños y M.C. Orlando Tortoledo, por su apoyo técnico durante los experimentos y su paciencia, aunque les preguntara lo mismo 10 veces.

A mis compañeros de Laboratorio con los que coincidí:

Valeria L., Esmeralda M., Érika I., Vero S., Ana Lucía C., Ángel V., Javier P., Rodrigo S., Abraham P., Laura G., por los buenos momentos, convivios, risas, quejas y de todo. Gracias por hacer esta experiencia más amena.

A Ricardo, Valeria, Rubí, Esme, Yessenia, mis amigos que hice durante este tiempo en CIAD, por compartir todo tipo de sentimientos buenos, estresantes, etc. Por su amistad y por hacer esta experiencia más divertida y llevadera, siempre les tendré un cariño especial.

A la Enf. Yosamar E. por su apoyo para las tomas de muestras sanguíneas, gracias por la disposición. Y como novia por escucharme, motivarme, apoyarme durante esta etapa de mi vida y darme ánimos cuando más lo necesitaba. Te amo.

A mi familia, Norma y Joss por su apoyo y amor incondicional.

DEDICATORIA

A mis padres,

Norma, mi madre, sin tu inspiración y motivación este trabajo no hubiera sido posible. Por tu apoyo incondicional en todos los aspectos, por la educación que me has dado, por los sacrificios que has hecho, por ti soy lo que soy... Gracias.

Javier, mi padre, siempre te tengo presente y sé que estarías orgulloso de mi, gracias por la educación que aún sin estar en este mundo físico me pudiste brindar.

Los amo.

CONTENIDO

APROBACIÓN	2
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL	3
AGRADECIMIENTOS	4
DEDICATORIA	6
CONTENIDO	7
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE CUADROS	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	14
2.1. Artritis Reumatoide.....	14
2.1.1. Epidemiología.....	14
2.1.2. Factores de Riesgo.....	15
2.1.3. Fisiopatología.....	16
2.1.4. Diagnóstico y Biomarcadores.....	17
2.1.4.1. Factor Reumatoide.....	18
2.1.4.2. Anticuerpos Anti Péptido Cíclico Citrulinado.....	18
2.1.5. Manifestaciones Clínicas.....	19
2.1.5.1. Articulares.....	19
2.1.5.2. No Articulares.....	19
2.1.6. Evaluación de Actividad de la Enfermedad.....	20
2.2. Dieta, Sistema Inmunológico y Artritis Reumatoide.....	20
2.2.1. Alimentos Inmunogénicos.....	21
2.2.2. Disbiosis y Artritis Reumatoide.....	22
2.2.3. Permeabilidad Intestinal.....	24
2.2.4. Eje Articulación - Intestino: Reactividad Cruzada.....	24
2.3. Artritis Reumatoide y Otras Enfermedades Autoinmunes.....	25
2.3.1. Enfermedad Celíaca.....	25
2.3.2. Síndrome de Sjögren.....	27
3. HIPÓTESIS	28
4. OBJETIVOS	29
4.1. Objetivos General.....	29
4.2. Objetivos Específicos.....	29
5. MATERIALES Y MÉTODOS	30
5.1. Selección de Pacientes y Tipo de Estudio.....	30

CONTENIDO (Continuación)

5.2. Historia Clínica, RADAI-5 y Frecuencia de Consumo de Alimentos Semanal.....	30
5.3. Evaluación de la Permeabilidad Intestinal en Pacientes con Artritis Reumatoide.....	31
5.4. Análisis de Microbiota Fecal.....	32
5.5. Intervención Dietética y Reto con Trigo.....	33
5.5.1. Dieta sin Trigo.....	33
5.5.2. Aislamiento de Células Mononucleares.....	33
5.5.3. Reto con Trigo y Cuantificación de IL-6 e IFN- γ	34
5.5.4. Prueba de Intolerancia a Fructanos.....	35
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
6.1. Características de las Pacientes.....	36
6.1.1. Historia Clínica e Índice de Actividad de la Enfermedad.....	36
6.1.2. Medicamentos y Suplementos Utilizados por las Pacientes.....	38
6.1.3. Frecuencia de Consumo de Alimentos.....	39
6.2. Preservación de la Barrera Intestinal.....	41
6.3. Efecto de los Componentes del Trigo Dietario.....	43
6.4. Respuesta a Reto ex vivo con Péptidos de Gluten.....	49
6.5. <i>Bacteroides</i> y <i>Prevotella copri</i> Fecal de Pacientes con AR.....	51
7. CONCLUSION.....	54
8. REFERENCIAS.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Índice de actividad de la enfermedad por artritis reumatoide (RADAI-5).....	37
2	Índice RADAI-5 durante la intervención nutricional sin trigo.....	46
3	Síntomas gastrointestinales en la dieta sin trigo.....	48
4	Abundancia relativa de <i>Bacteroides spp.</i> en heces.....	51

LISTA DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Categorías de actividad de la enfermedad según RADAI-5.....	31
2	Características generales de las pacientes.....	36
3	Antecedentes patológicos de las pacientes.....	38
4	Frecuencia de Consumo Semanal de Alimentos.....	41
5	Índice RADAI-5 a la entrevista y a la semana con 8 g/d de gluten.....	44
6	Resultados de las pruebas de intolerancia a fructanos.....	48

RESUMEN

La artritis reumatoide (AR) es una patología autoinmune, crónica degenerativa, que afecta principalmente las articulaciones causando dolor, inflamación y rigidez. Buscando mejoría, muchos pacientes recurren a tratamientos alternativos, evitando alimentos, entre otros los de trigo; sin embargo, no hay sustento científico que respalde dicha medida. El objetivo de este estudio, fue evaluar la respuesta inmune a las proteínas del trigo, así como el índice de actividad de la enfermedad, después de una dieta sin trigo y su reintroducción, en pacientes con artritis reumatoide, sin celiaquía e independientemente del estado de su permeabilidad intestinal y microbiota. Participaron 6 personas con AR, colectamos su historia clínica y evaluamos síntomas articulares y no articulares, anticuerpos asociados a enfermedad celiaca, permeabilidad intestinal con prueba lactulosa/manitol, *Prevotella copri* y *Bacteroides spp*, en heces, por qPCR, así como intolerancia a fructanos en prueba de aliento. Les asignamos dieta sin trigo durante 4 semanas, con reintroducción de trigo dietario durante 3 días; evaluamos actividad de la AR con el índice RADAI-5 durante y posterior a la dieta; a los 6 días, tomamos muestra de sangre, aislamos células mononucleares y retamos *ex vivo* con péptidos de gluten del trigo. Al final del reto, cuantificamos IL-6 e IFN- γ , por ELISA. Ninguno de las pacientes padecía enfermedad celiaca, ni presentó alteraciones en la permeabilidad intestinal. Cuatro pacientes presentaron acumulación de *Bacteroides* mayor al 40% y ninguno presentó *Prevotella copri*; tampoco detectamos intolerancia a fructanos. En el paciente P5 disminuyó el índice RADAI-5 de alto a remisión en la dieta sin trigo e incrementó rápidamente en la reintroducción; en las pacientes P3 y P6 el índice decreció en una categoría y aumentó en dos categorías solo en P1, en dieta sin y con trigo, respectivamente. Sin embargo, en el reto *ex vivo*, no aumentaron las citocinas IL-6 e IFN- γ en algún caso. En conclusión, el trigo pudiera influir en los síntomas articulares de algunos pacientes con AR, pero no necesariamente a través de una respuesta inmune inflamatoria, ni debido a disbiosis, sino de hipersensibilidad focalizada en la mucosa intestinal con señalización al sistema nervioso.

Palabras clave: artritis reumatoide, microbiota, disbiosis, permeabilidad intestinal, trigo

ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic degenerative autoimmune disease that mainly affects the joints causing pain, inflammation and stiffness. Looking for improvement, many patients try alternative treatments, avoiding some foods, including the wheat-containing ones; however, there is no scientific support for such a measure. The aim of this study was to evaluate the immune response to wheat proteins, as well as the disease activity index, after a wheat-free diet and its reintroduction in patients with RA, without celiac disease, and regardless of their intestinal permeability status and microbiota. There were 6 participants with RA, we registered their clinical history and evaluated articular and non-articular symptoms, antibodies associated with celiac disease, intestinal permeability with lactulose/mannitol test and fecal *Prevotella copri* and *Bacteroides spp* by qPCR, as well as intolerance to fructans by the breath test. We assigned a wheat-free diet for 4 weeks and reintroduced wheat for 3 days; we evaluated RA activity with the RADAI-5 index along and after the diet; after 6 days we took a blood sample, isolated mononuclear cells and challenged them *ex vivo* with wheat gluten peptides. We quantified IL-6 and IFN- γ by ELISA at the end of the challenge. No patient had celiac disease, nor alterations in intestinal permeability. Four patients presented accumulation of *Bacteroides* greater than 40% and none presented *Prevotella copri*, nor fructan intolerance. The RADAI-5 index decreased from high to remission in patient P5 with the wheat-free diet and suddenly increased after the wheat reintroduction; for P3 and P6 the index decreased by one category and it increased by two categories only for P1, in the same periods. However, in the *ex vivo* challenge, there was no increase in IL-6 and IFN- γ cytokines in any case. In conclusion, wheat could influence the joint symptoms in some RA patients, but not necessarily through a cellular immune response, nor due to dysbiosis, but rather through focal hypersensitivity on the intestinal mucosa with signaling to the nervous system.

Keywords: rheumatoid arthritis, microbiota, dysbiosis, intestinal permeability, wheat

1. INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una de las enfermedades inflamatorias con mayor prevalencia, afectando principalmente mujeres en quienes causa dolor, inflamación y rigidez articular. El dolor es tal que provoca alteraciones de sueño, daño estructural en la articulación, que deriva en la pérdida de la función. Además del gran impacto en la calidad de vida, este padecimiento conlleva un gasto económico importante, causado por los costos de atención médica y en ocasiones pérdida de empleo por la disminución de la funcionalidad (Gibofsky, 2014; Sarzi-Puttini *et al.*, 2014; Aggarwal *et al.*, 2006). Además del daño físico, la AR afecta emocional y psicológicamente al paciente.

En la actualidad las tasas de remisión de la AR son bajas, a pesar de los avances en el tratamiento. Por esto, buscando mejorar su calidad de vida, un 50% de los pacientes utilizan tratamientos alternativos, como el evitar la ingestión de ciertos alimentos (Bashda, 2018). Los alimentos que se consideran relacionados con la AR, son los productos de trigo, los lácteos, solanáceas y huevo (Hvatum *et al.*, 2006; Tedeschi & Costenbader, 2016). Se hipotetiza que, al eliminar el trigo o sus componentes de la dieta de un paciente con AR, remiten los síntomas. No obstante, aún se desconoce el mecanismo o si existe una relación real entre el trigo y la AR (Castillo–Ortiz *et al.*, 2010; Hafström *et al.*, 2001; Beri *et al.*, 1988).

Hoy en día, no hay estudios concluyentes que clarifiquen los efectos de la dieta en la actividad de la AR. Sin embargo, es posible que la exposición a ciertos alimentos, nutrientes, tipos de dieta o hábitos, puedan impactar el estado de la enfermedad con el tiempo. Posiblemente se den fluctuaciones en los síntomas, asociados a cambios en la dieta, pero hay poca información al respecto (Tedeschi & Costenbader, 2016).

En este contexto, el objetivo de este estudio, fue investigar si existe influencia de la respuesta inmune a la ingestión de trigo en la inflamación articular de pacientes con artritis reumatoide.

2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

2.1. Artritis Reumatoide

La artritis reumatoide (AR) es una patología autoinmune, inflamatoria, crónica, degenerativa, de carácter sistémico cuya etiología es multifactorial. Se caracteriza por la hinchazón e inflamación del líquido sinovial de las articulaciones diartrodiales, lo que conduce a deformaciones y destrucción de las estructuras articulares, que puede resultar en una discapacidad severa. El paciente con AR activa, presenta inflamación sistémica y puede desarrollar comorbilidades como obesidad, hipertensión, osteoporosis u osteopenia, enfermedades gastrointestinales, neumopatía y cardiopatías. Esto, aumenta la morbilidad y el riesgo de mortalidad (Negrei *et al.*, 2016; Klodzinski & Wislowska, 2018).

2.1.1. Epidemiología

La AR afecta aproximadamente al 1.6% de la población en México, aunque en la península de Yucatán puede ser de hasta 2.8% (Rodríguez-Elías, 2016; Sepúlveda-Delgado *et al.*, 2020). En ese mismo contexto, la prevalencia mundial incluyendo niños, es de 0.24 a 1%. Los datos anteriores fueron calculados usando los criterios diagnósticos del Colegio Americano de Reumatología de 1987, los cuales tienen una mayor especificidad y predicen una enfermedad más erosiva (Berglin & Dahlqvist, 2013). En mujeres, la prevalencia es 2.6%, mucho mayor que la de su contraparte masculina; especialmente incide en mujeres posmenopáusicas, entre 50 y 60 años de edad. En cuanto a ser causante de discapacidad a nivel global, es la cuadragésima segunda (42°) enfermedad, debajo de la malaria y por encima de la deficiencia de yodo (Cross *et al.*, 2014; Gibofsky, 2014; van der Woude & van der Helm-van Mil, 2018).

2.1.2. Factores de Riesgo

Se han asociado diversos factores de riesgo para el desarrollo de artritis reumatoide; así, se considera una patología multifactorial compleja, que incluye la susceptibilidad genética y el medioambiente. Se estima que hasta dos tercios del riesgo de desarrollar AR es genético, el otro tercio se puede deber a factores medioambientales. Por esto, la probabilidad de heredar AR, podría ser del 60% al 70% (Rodríguez-Elías, 2016).

El factor de riesgo genético más fuerte para AR, que contribuye hasta en un 40%, de acuerdo a algunos autores, es un conjunto de alelos en el complejo de histocompatibilidad (MHC). Éstos codifican secuencias de aminoácidos con similitudes estructurales en el sitio de enlace y se han llamado en conjunto, epítipo compartido (Deane *et al.*, 2017). Son los alelos HLA-DRB1 (*04:01, *04:04, *04:05, *04:08, *04:09, *01:01, *01:02 y *10:01), que comparten una secuencia de aminoácidos en las posiciones 70-74 de la tercera región hipervariable de la cadena HLA-DRβ1 (Raslan *et al.*, 2020). Además, se relacionan con el rigor de la enfermedad teniendo un efecto llamado “dosis-genético”, esto significa que la gravedad de los síntomas dependerá de su presencia (Torres *et al.*, 1998).

Como en otras enfermedades autoinmunes, hay factores genéticos con efecto protector. Tal es el caso del alelo DRB1*08 en población del sur de México, pero aún no se han elucidado las bases moleculares de su relación con la AR (Sepúlveda-Delgado *et al.*, 2020).

Algunos tipos de infección microbiana se han asociado al desarrollo de artritis reumatoide, debido a mimetismo molecular. De esta forma, la autoinmunidad sería causada por la respuesta inmunitaria generada por el organismo contra agentes infecciosos. Las células T y B al activarse por un patógeno pueden reconocer un antígeno propio con estructura similar, lo cual ocasiona la ruptura de la tolerancia a los antígenos propios del organismo. Tal es el caso del mimetismo molecular provocado por agentes infecciosos como el virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, *Proteus sp.*, *Prevotella sp.*, *Escherichia coli*, *P. gingivalis* y sus metabolitos, que frecuentemente se les asocia con la AR. Sin embargo, aún es incierto si son parte del problema o la causa (Barberá & Dominguez, 2004; Gibofsky, 2014; Pianta *et al.*, 2017).

Por otra parte, la disbiosis intestinal se define como el desequilibrio, en cantidad y en calidad de la composición de microorganismos comensales en el tracto digestivo. Actualmente es de

importancia científica, por el papel que juega en el desarrollo de las enfermedades autoinmunes, como la AR. Los tres sitios asociados principalmente a la etiología de la AR con la microbiota son: pulmones, mucosa oral y tracto digestivo (Horta-Baas *et al.*, 2017). De allí el aumento en el interés sobre la interacción de la dieta con la estructura y función de la microbiota, que puede tener implicaciones en enfermedades como la AR (Paolino *et al.*, 2019). La manipulación de la microbiota en modelos animales y humanos, puede tener potencial terapéutico. Una dieta equilibrada está asociada a una microbiota en equilibrio y a un sistema inmune menos reactivo a respuestas inflamatorias sistémicas (Cutolo & Nikiphorou, 2018).

Finalmente, existen otros factores medioambientales como la influencia hormonal en mujeres, razón por la cual son más propensas de padecer AR. Entre otros, posiblemente el tabaquismo aumente el riesgo de AR, y puede influir en la gravedad de la patología una vez desarrollada (Ruiz-Esquide & Sanmartí, 2012; Gibofsky, 2014).

2.1.3. Fisiopatología

La principal característica de la AR es la inflamación de la membrana sinovial, causada por una serie de cascadas inflamatorias. Esta inflamación posiblemente es provocada por la infiltración de linfocitos T y B, células endoteliales, macrófagos activados, que comienzan la producción de citocinas, factores de crecimiento, quimiocinas y otras moléculas de señalización. Tras la infiltración, los linfocitos Th17 secretan IL-17, que interacciona con las células dendríticas, macrófagos y linfocitos B. Asimismo, la IL-17 se asocia con la degradación de los proteoglicanos del cartílago y diferenciación de los osteoclastos, que migran y generan la erosión ósea. Igualmente, puede incrementar la vascularización promoviendo la angiogénesis, por medio del factor de crecimiento endotelial; además se aumenta la inflamación de la articulación a través de otras citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 e IL-6. Los macrófagos secretan TNF- α e IL-1 que inducen la destrucción de cartílago y hueso (Sánchez-Ramón *et al.*, 2010; García-Sevillano, 2014). Por otra parte, los linfocitos B tienen una función esencial al producir los auto-anticuerpos involucrados en el proceso (factor reumatoide y anticuerpo antipéptido cíclico citrulinado), y activan a dos tipos de células, las células T y los fibroblastos. Las células Th1 y Th2 inhiben la

osteoclastogénesis por medio de la secreción del interferón- γ (IFN- γ) e IL-4. Los neutrófilos en el líquido sinovial además de promover inflamación, producen hiperplasia y activan mastocitos, con más receptores para la IL-17 en la membrana sinovial. Las células T CD4+ reguladoras se encuentran disminuidas, lo que provoca un desequilibrio en la regulación de inmunidad (García-Sevillano, 2014).

Es por las razones antes descritas, se forma un tejido llamado “pannus” (tejido conjuntivo vascularizado, de carácter inflamatorio – reactivo), que deriva en la destrucción del cartílago y erosión de los huesos. Como consecuencia, se limita la funcionalidad de las personas afectadas (Sánchez-Ramón *et al.*, 2010; García-Sevillano, 2014).

2.1.4. Diagnóstico y Biomarcadores

En la actualidad no hay un examen diagnóstico o marcador específico para la AR. El diagnóstico se hace, primero, mediante signos clínicos como sinovitis y nódulos reumatoides; con radiografías para confirmar la presencia de erosiones articulares. También se diagnostica mediante análisis serológico, más comúnmente, en busca del factor reumatoide (FR); también se utiliza el análisis de anticuerpos antipéptido cíclico citrulinado (ACPA), que es eficaz para el diagnóstico en etapas tempranas. Los marcadores de la fase aguda de la enfermedad son el volumen de sedimentación globular (VSG) y la proteína C reactiva, que evidencia la presencia de inflamación y la intensidad, pero estos marcadores no tienen validez como diagnóstico (García-Sevillano, 2014; Martínez *et al.*, 2011). Los anticuerpos FR y ACPA posiblemente se desarrollen años antes de las manifestaciones clínicas de AR, como en otras enfermedades autoinmunes, sugiriendo que la autoinmunidad puede desencadenarse en otros sitios, no necesariamente en las articulaciones (Pianta *et al.*, 2017).

Para el diagnóstico de la AR, ahora se utilizan los criterios del Colegio Americano de Reumatología y de la Liga Europea contra el Reumatismo del 2010, que tienen mayor sensibilidad, pero menor especificidad que los criterios anteriores (Berglin & Dahlqvist, 2013). Los criterios actuales están diseñados para ser aplicados exclusivamente a pacientes con artritis indiferenciada, que no pueda ser justificada por otras causas y su objetivo es detectar la enfermedad en etapas tempranas (Gómez,

2011; Martínez *et al.*, 2011).

El diagnóstico y tratamiento precoz de la AR reducen la lesión estructural, ya que muchos de los pacientes presentan daños en los primeros años de la enfermedad y es el periodo cuando la patología avanza con más rapidez (García–Sevillano, 2014).

2.1.4.1. Factor Reumatoide. Se denomina así a una prueba primero aplicada en AR y se trata de anticuerpos de diversos isotipos dirigidos contra la porción Fc de la IgG, por lo que se consideran autoanticuerpos (Ayyappan *et al.*, 2020). Por la facilidad de la IgM a formar agregados con la IgG, este isotipo fue el primero en detectarse. Este factor, se ha vinculado a la AR, a pesar de su baja especificidad (50-80%), con una sensibilidad del 65-85%, pero puede encontrarse en otros padecimientos inflamatorios, agudos, crónicos, autoinmunes e infecciosos, incluso en población sana, sobre todo en mayores de 55 años (Jadue, 2007). Un nivel elevado de anticuerpos contra FR, se relaciona con una enfermedad más agresiva; sin embargo, no se considera válido para un seguimiento a largo plazo (Jadue, 2007; Zavala–Cerna *et al.*, 2009).

2.1.4.2. Anticuerpos Anti Péptido Cíclico Citrulinado (ACPA). La citrulina se forma por la modificación postraducciona l de la arginina, por la enzima peptil-arginina deamidada, convirtiéndose así en la molécula diana para los anticuerpos antipéptido cíclico citrulinado. Cuando ocurre la citrulinación, la nueva estructura induce la respuesta inmune que lleva a la producción de autoanticuerpos asociados al epítipo compartido y con una peor prognosis. Ante la necesidad de encontrar anticuerpos específicos para el diagnóstico de la AR, que la distinga de otras enfermedades inflamatorias, se han estudiado los anticuerpos ACPA. El ACPA tiene una especificidad de hasta el 98% y una sensibilidad de hasta 80%; por lo tanto, es una buena opción para predecir erosiones de las articulaciones y para el diagnóstico precoz de la enfermedad (Jadue, 2007; Zavala-Cerna *et al.*, 2009; Sakkas *et al.*, 2014).

2.1.5. Manifestaciones Clínicas

En la AR los signos y síntomas son diversos entre pacientes, variando desde la gravedad hasta la frecuencia; desde las articulares típicas de la enfermedad, incluso las no articulares. La AR va avanzando gradualmente, por lo que se le considera crónico-degenerativa. Por lo regular, comienza con una inflamación progresiva, destrucción articular y finalmente la discapacidad física severa (García-Sevillano, 2014).

2.1.5.1. Articulares. El daño articular es simétrico y las articulaciones más afectadas son las metacarpofalángicas, interfalángicas proximales de las manos, muñecas y metatarso-falángicas de los pies. Conforme progresa la enfermedad afecta otras articulaciones como hombros, codos y rodillas. Otros síntomas típicos de la AR activa, son la inflamación del tejido sinovial, la sensibilidad y la rigidez matutina, que puede tener una duración de hasta más de 1 h. La AR se distingue de otras formas de artritis por la degradación de cartílago, hueso articular y periarticular (Smolen *et al.*, 2018).

2.1.5.2. No Articulares. Hay manifestaciones extraarticulares que se pueden presentar en un 50% de los pacientes con AR. Tales son, el síndrome de Sjögren, alteraciones gastrointestinales, fiebre, fatiga, mialgias y caquexia.

La caquexia reumatoide es un tipo de desnutrición asociada a procesos inflamatorios crónicos, en la cual se pierde masa magra y tiene repercusión funcional, en la calidad de vida y en el pronóstico de la enfermedad. Hasta el 95% de los pacientes con AR pueden presentar este tipo de alteraciones nutricionales (Hurtado-Torres *et al.*, 2015).

Además, se sabe que la fatiga es un fenómeno complejo en la AR y que está asociada con la actividad de la enfermedad, fármacos e inactividad física, posiblemente causada por la elevada concentración de citocinas proinflamatorias. Entre un 40 – 70% de los pacientes con AR presenta fatiga severa que se describe como: “cansancio diferente”, abrumador, incontrolable e intratable (Katz, 2017).

Los pacientes con AR, frecuentemente se quejan de problemas gastrointestinales antes y durante el transcurso de la enfermedad; particularmente de dispepsias, úlceras, náuseas, constipación y dolor en el epigastrio. Además, a la patogénesis de la enfermedad, se asocia una microbiota alterada (Khanna *et al.*, 2017). Debido a que la AR es una enfermedad inflamatoria, aún en ausencia de síntomas intestinales, pueden darse lesiones microscópicas e inflamación a este nivel; se hipotetiza que incluso antes del diagnóstico (Demoruelle *et al.*, 2013; Spadaro *et al.*, 2002).

2.1.6. Evaluación de Actividad de la Enfermedad

Para dar seguimiento a los síntomas y el curso de la enfermedad de los pacientes con AR se pueden utilizar los Cuestionarios de Resultados Reportados por el Paciente (PROM por sus siglas en inglés). Los PROM más estudiados y validados son Pt-DAS28, RADAI, RADAI-5 and RAPID 3 (Hendrikx *et al.*, 2016).

Por ejemplo, el Índice de Actividad de la Enfermedad por Artritis Reumatoide (RADAI-5) consiste en cinco preguntas para conocer cómo percibe el paciente con AR su salud en tiempo pasado y presente. Se divide en cuatro categorías que dependen de la media de cinco preguntas. Este cuestionario puede ser realizado por el paciente y resulta una herramienta sencilla y efectiva para evaluar cambios en la actividad de la enfermedad (Leeb *et al.*, 2014; Tanwar *et al.*, 2019).

2.2. Dieta, Sistema Inmunológico y Artritis Reumatoide

Hoy en día, es necesario un enfoque multidisciplinario para enfrentar patologías como la AR, ya que la nutrición cada vez es más relevante en las enfermedades inflamatorias. Los pacientes con AR comúnmente solicitan asesoría nutricional, y en ocasiones realizan dietas fraudulentas, mágicas o de moda, con la esperanza de mejorar el curso de la enfermedad (Paolino *et al.*, 2019). Entre un 33-77% de pacientes cree que hay una relación entre el consumo de ciertos alimentos y la severidad de los síntomas; hasta un 50% de ellos, utiliza algún tipo de plan de alimentación para mejorar su

condición (Stamp *et al.*, 2005). De igual manera, en una encuesta realizada a 217 pacientes con AR, 52 piensan que por lo menos un alimento afecta su condición de salud y los evitan para no agravarse (Tedeschi *et al.*, 2017).

Por otra parte, la disbiosis microbiana en la AR está involucrada en su patogénesis y prognosis (Paolino *et al.*, 2019; Ayyappan *et al.*, 2020). La dieta tiene una fuerte contribución no solo en la conformación de la microbiota, que afecta el sistema inmune, sino que puede modular directamente la respuesta inmune a través de los nutrientes involucrados en vías metabólicas gastrointestinales y sistémicas (Paolino *et al.*, 2019).

2.2.1. Alimentos Inmunogénicos

En principio las proteínas y los polisacáridos de cualquier alimento, son inmunogénicos; es decir, capaces de inducir una respuesta inmune. Sin embargo, las proteínas del gluten de trigo, por su naturaleza única de baja digestibilidad gastrointestinal, se han asociado con inducción o exacerbación de enfermedades autoinmunes como la celiaca y la diabetes tipo 1.

El trigo contiene 12-14% de proteínas, como las del gluten y las no asociadas a gluten. El gluten, conforma el 80% de las proteínas totales, que son gliadinas y gluteninas insolubles en agua, con alta proporción de prolina y glutamina, que limitan la accesibilidad a las enzimas digestivas en el tracto gastrointestinal. Así, los péptidos de hasta 33 residuos de aminoácidos, pueden ser detectados por las células inmunitarias del intestino (Calderón de la Barca *et al.*, 2018; Junker *et al.*, 2012).

Otras fracciones proteicas del trigo ajenas al gluten y con mejor solubilidad en soluciones acuosas, que pueden activar el sistema inmunitario, son los inhibidores de α -amilasa/tripsina (ATIs) y la lectina del germen. Debido al alto contenido de puentes disulfuro, resisten proceso térmico y digestión gastrointestinal, de allí el potencial para activar la inmunidad innata (Reig-Otero *et al.*, 2018; Panacer & Whorwell, 2019).

Finalmente, los fructanos del trigo que son oligosacáridos fermentables, pueden afectar al intestino inflamado o irritado, agravando síntomas intestinales (Panacer & Whorwell, 2019). Estos compuestos, aunque pueden exacerbar síntomas intestinales, no se asocian a la patogénesis de enfermedades autoinmunes.

La evidencia publicada asocia una dieta sin gluten con múltiples beneficios en la AR, como reducción de anticuerpos anti-gliadinas, efectos anti-inflamatorios, anti-aterogénicos y disminución en la actividad de la enfermedad (Bashda, 2018). Si bien, las dietas estudiadas son sin gluten y veganas, esto podría sesgar los resultados al eliminar otros alimentos inmunogénicos, lo cual hace difícil evaluar el efecto de eliminar el gluten de la dieta por sí solo. Además del trigo, hay otros alimentos que se asocian a respuestas inmunológicas en AR, como las proteínas de la leche, huevo, solanáceas y soya (Henderson & Panush, 1999).

La evidencia científica sobre el efecto de los alimentos en casos de AR, es poco concluyente. Es solo de conocimiento popular que el evitarlos ayuda a disminuir síntomas (Tedeschi & Constenbader, 2016; Vojdani *et al.*, 2007).

2.2.2. Disbiosis y Artritis Reumatoide

Los pacientes con diagnóstico reciente de AR tienen un desbalance en su microbiota (disbiosis), comparada con la de personas sanas, esta alteración podría llevar a un aumento en la producción de IL-17. Además, en el intestino se puede llevar a cabo el proceso de citrulinación lo que eleva el riesgo de desarrollo de AR y otras enfermedades autoinmunes. Así pues, la microbiota sufre cambios con el progreso de la enfermedad (Guerreiro *et al.*, 2018, Schorpion & Kolasinski, 2017). La disbiosis intestinal afecta la inmunidad innata promoviendo la producción de citocinas proinflamatorias. Las células T auto-reactivas migran a tejidos linfoides periféricos y activan a las células B para formar células plasmáticas productoras de anticuerpos. Los anticuerpos y las células plasmáticas migran al tejido sinovial e inician una cascada inflamatoria involucrando macrófagos, fibroblastos, osteoclastos y proteinasas principalmente (Bashda, 2018). Aunado a esto, hay elevación de lisozima en los pacientes con AR, debido a que diversas células del sistema inmune inducen su producción para atacar bacterias patógenas. Así mismo, esta enzima proviene de la activación de macrófagos por las citocinas proinflamatorias, que podrían desencadenarse por acción de la dieta (Ayyappan *et al.*, 2020).

Los pacientes con diagnóstico reciente de AR, presentan baja diversidad bacteriana, además de una importante sobrepoblación de *Prevotella copri*. Ésta, probablemente juega un papel importante en

la patogénesis de AR, se relaciona con el inicio, la gravedad de la enfermedad, y cuando su contribución a la microbiota es baja, disminuye la actividad de la AR (Paolino *et al.*, 2019; de Egea & Campi, 2016). Sin embargo, se tiene conocimiento de aproximadamente 40 especies diferentes de *Prevotella*, cada una con una serie de diferencias genómicas entre cepas, especie y hospedero (Guerreiro *et al.*, 2018). Esto, podría explicar por qué se presentan tantas contradicciones al estudiar su funcionamiento.

Tal es el caso de *Prevotella copri*; en un estudio italiano señalaron que existen variaciones de cepas provocado por cambios en la dieta y distribución geográfica (De Filippis *et al.*, 2019). Es decir, esta bacteria comensal es muy susceptible a cambios medioambientales. Asimismo, se demostró en un estudio en población occidental, que, *P. copri* no es una especie monotípica, en otras palabras, existen muchas subespecies (en este caso encontraron 4) y a su vez, estas tienen la capacidad de residir en solitario o conjuntas (Tett *et al.*, 2019). Por lo tanto, resulta complicado identificar la especie de *P. copri* que podría estar relacionada con la AR.

En pacientes con lupus eritematoso sistémico tratados con glucocorticoides, se alteró el microambiente intestinal y se modificó la abundancia de algunos géneros de bacterias; una modificación inapropiada a causa del tratamiento, podría aumentar el riesgo de efectos secundarios (Gou *et al.* 2020). En un modelo murino de lupus, se asoció la eficacia de los glucocorticoides con alteraciones de la microbiota. Lo mismo ocurrió en otro modelo de enfermedad inflamatoria intestinal, donde el consumo crónico de glucocorticoides modificó la microbiota intestinal, al regular la expresión de genes de mucina (He *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2015)

2.2.3. Permeabilidad Intestinal

El lumen intestinal consta de una sola capa de células epiteliales que separa el exterior del medio ambiente interior. En las enfermedades autoinmunes como la AR, se puede perturbar la permeabilidad intestinal, afectando la tolerancia y la inmunidad de antígenos propios. En este sentido, las infecciones, la disbiosis, alérgenos, toxinas, fármacos y estrés, afectan la integridad de las uniones en las células intestinales, donde las citocinas tienen un rol importante en la regulación de la permeabilidad. TNF α , IFN γ , IL-1 β , IL-6 e IL-17 son mediadores pro-inflamatorios

abundantes en las articulaciones de los pacientes con AR, también alteran las uniones de los enterocitos (Lerner & Matthias, 2015).

Entre otros factores que pudieran afectar la permeabilidad intestinal, están los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINES), de uso común en los pacientes con AR. De hecho, así se demostró en pacientes con AR bajo tratamiento reciente o actual con estos fármacos (Bjarnason et al., 1984).

2.2.4. Eje Articulación - Intestino: Reactividad Cruzada

El eje articulación - intestino tiene un rol importante en la autoinmunidad sistémica. Las situaciones principales que promueven esto son la disbiosis, la transformación de péptidos no inmunogénicos a inmunogénicos y el aumento de permeabilidad intestinal. La microbiota intestinal tienen la capacidad de hacer modificaciones postraduccionales de péptidos (Lerner *et al.*, 2016). El sistema gastrointestinal puede contribuir a la actividad de la AR, ya que puede producir nuevos epítomos, y violar la tolerancia de los antígenos propios, por medio de citrulinación y reactividad cruzada, desencadenando la generación de autoanticuerpos (Lerner & Matthias, 2015). Debido a que, en pacientes con AR la inmunidad intestinal está alterada y posiblemente la permeabilidad perturbada, los antígenos exógenos de los alimentos, pueden inducir respuesta inmune en zonas distales al intestino (Warjri *et al.*, 2015; Hvatum *et al.*, 2005).

Como se ha probado *in vitro*, la inflamación articular puede darse por efecto de linfocitos activados en el intestino, que tienen la capacidad de viajar y adherirse a los vasos sanguíneos sinoviales inflamados, a esto se le conoce como “gut iteropathy concept” (Brakenhoff *et al.*, 2010). Asimismo, los linfocitos T activados por el intestino, posteriormente son expandidos clonalmente y circulan hasta las articulaciones donde pueden encontrar antígenos iguales o similares (reactividad cruzada), induciendo o manteniendo una respuesta inflamatoria articular como resultado (May *et al.*, 2000).

2.3. Artritis Reumatoide y Otras Enfermedades Autoinmunes

Las personas con una enfermedad autoinmune, por lo general tienen mayor riesgo de desarrollar otras enfermedades autoinmunes. En el caso de la AR, las patologías más comunes son el Síndrome de Sjögren y la enfermedad celíaca, debido a algunas similitudes en su patogénesis. De entre las tres patologías, únicamente en la celiaquía se ha comprobado que un componente dietético la detone, las otras dos es probable que tengan relación con el mismo u otro tipo de antígenos exógenos (Castillo-Ortiz *et al.*, 2010; Zylberberg *et al.*, 2018).

2.3.1. Enfermedad Celíaca (EC)

La EC es una enteropatía inflamatoria crónica de tipo autoinmune que afecta a personas con predisposición genética (HLA-DQ2/DQ8). Se distingue por la atrofia de las vellosidades del intestino delgado, desencadenada por la ingestión de gluten. Las manifestaciones más frecuentes son diarrea, dolor y distensión abdominal; también se pueden presentar síntomas extraintestinales como la artritis, artralgia, cefalea, osteoporosis y fatiga crónica (Remes-Troche *et al.*, 2018). Llama la atención que el tratamiento, consistente en una dieta sin gluten en la EC, además de disminuir la presencia de auto-anticuerpos y síntomas, pueda reducir el riesgo de desarrollar otras enfermedades autoinmunes (Koszarny *et al.*, 2015).

Para el diagnóstico de EC, se analizan anticuerpos IgA e IgG contra la transglutaminasa tisular (TGt) y contra gliadinas; curiosamente, algunos pacientes con AR sin signos o síntomas de EC, también se presentan anticuerpos anti-gliadinas. Sin embargo, el tratamiento con metrotexato disminuye la frecuencia de estos auto-anticuerpos en pacientes con AR. Por lo anterior, se sugiere incluir la EC en el diagnóstico diferencial cuando no se de mejoría en la AR, al utilizar fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (Castillo-Ortiz *et al.*, 2010).

En un estudio de 146 pacientes con diferentes enfermedades del tejido conectivo evaluaron anti-TGt, entre ellas AR y síndrome de Sjögren; de éstos, 8 resultaron positivos. Destaca una paciente sin diagnóstico (EC o AR) que cursaba con un cuadro de artritis indiferenciada y presentó

anticuerpos positivos para EC. Después de una dieta sin gluten, los anticuerpos anti-TGt y anti-endomiso en suero, fueron negativos (Rodríguez *et al.*, 2014).

De las evidencias anteriores, pareciera haber una superposición de anticuerpos entre AR y EC, que requiere estudios para elucidar el mecanismo (Yang, 2019). Mientras tanto, sería útil la evaluación serológica para EC en enfermedades de tejido conectivo, aunque el diagnóstico definitivo debe de ser por medio de biopsia. Similarmente, se deben tomar en cuenta otros factores que afectan la concentración de los anticuerpos como el uso de medicamentos de inmunosupresión o biológicos, que pueden afectar el resultado (Koszarny *et al.*, 2015).

Por otra parte, hay estudios donde se indaga la relación entre la EC y la AR mediante asociación del genoma completo, en busca de genes de riesgo en común (pertenecientes y no pertenecientes a HLA). Estos no son concluyentes y se requieren más estudios (Eyre *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2011; Zhernakova *et al.*, 2011). Es posible que existan más similitudes entre EC y AR u otras patologías autoinmunes, quizá otros factores exógenos podrían desencadenar procesos autoinmunes, como el gluten en la EC (Sollid & Jabri, 2005).

2.3.2. Síndrome de Sjögren

El síndrome de Sjögren es una patología autoinmune, que afecta principalmente las glándulas salivales y lacrimógenas, causado por una infiltración linfocítica, derivando así en xeroftalmia y xerostomía. Algunos pacientes presentan otros síntomas como dolor e inflamación articular, erupciones cutáneas, piel seca, fatiga prolongada y fenómeno de Reynaud (Corominas *et al.*, 2008). Pese a ser multifactorial, se destaca como factor de riesgo, el ser del sexo femenino y padecer AR, mientras que el síndrome viene secundario. Además, los pacientes con enfermedades reumáticas sistémicas, tienen síntomas gastro-intestinales (Zylberberg *et al.*, 2018).

En forma análoga a como habían probado Kristjansson *et al.* (2005), la respuesta a gluten en la mucosa rectal de enfermos celíacos, por producción de óxido nítrico, un mediador de inflamación, Lidén *et al.* (2007), replicaron el ensayo en 20 pacientes con síndrome de Sjögren primario. Cinco de los pacientes presentaron incremento en la producción de óxido nítrico y todos eran positivos al menos en un haplotipo (HLA-DQ2 o DQ8). No obstante, que dos de los cinco pacientes presentaron

niveles elevados de anticuerpos anti-TGt, solo en uno se confirmó EC mediante biopsia. Posiblemente exista una respuesta inflamatoria en pacientes con síndrome de Sjögren primario causada por sensibilidad al gluten, no necesariamente asociado a EC. La sensibilidad a antígenos alimentarios como el gluten, puede servir para identificar pacientes en riesgo de desarrollar otras enfermedades autoinmunes que pudieran ser inducidas por la dieta.

3. HIPÓTESIS

La respuesta inmune a las proteínas del trigo dietarias exacerba la inflamación articular en los pacientes con artritis reumatoide, diferencialmente de la enfermedad celiaca e independiente del estado de su permeabilidad intestinal y microbiota.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar la respuesta inmune celular *ex vivo* a las proteínas del trigo, así como el índice de actividad de la enfermedad, después de una dieta sin trigo y su reintroducción, en pacientes con artritis reumatoide, sin celiaquía e independientemente del estado de su permeabilidad intestinal y microbiota.

4.2. Objetivos Específicos

1. Registrar la historia clínica de pacientes con artritis reumatoide, evaluar la actividad de la enfermedad y los síntomas no articulares, así como la dieta, anticuerpos asociados a enfermedad celiaca y permeabilidad intestinal.
2. Analizar la acumulación de *Prevotella copri* y *Bacteroides*, respecto a bacterias totales, en la microbiota fecal de los pacientes.
3. Evaluar los síntomas durante y después de una dieta sin trigo por cuatro semanas a pacientes con artritis reumatoide y posterior a la reintroducción de alimentos con trigo, retar sus células mononucleares *ex vivo* con péptidos del gluten de trigo y cuantificar citocinas proinflamatorias.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Selección de Pacientes y Tipo de Estudio

Se realizó un estudio cuasi-experimental de tipo exploratorio, con muestreos a conveniencia seleccionando pacientes mayores de 18 años, residentes de la ciudad de Hermosillo, Sonora y con diagnóstico médico de artritis reumatoide hecho por un especialista en reumatología. Se excluyeron pacientes con enfermedad muy avanzada con pérdida de movilidad o con enfermedad celíaca concomitante. Para descartar enfermedad celíaca en los pacientes se les tomó una muestra sanguínea y se cuantificaron anticuerpos por medio de ensayo de inmuno-absorción ligado a enzimas (ELISA). Los anticuerpos IgG e IgA anti-gliadinas así como anticuerpos IgA anti-transglutaminasa, se determinaron por el método de Cabrera-Chávez *et al.* (2009).

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CEI/014-1/2021). Los pacientes que aceptaron participar en el estudio firmaron un consentimiento informado.

5.2. Historia Clínica, RADAI-5 y Frecuencia de Consumo de Alimentos Semanal

Se aplicó a cada paciente en el estudio un cuestionario para conformar su historia clínica, por medio de una videollamada registrando sus datos generales y la fecha en el que fueron diagnosticados con artritis reumatoide. También se registró su nivel de actividad física, antecedentes patológicos familiares y personales, intolerancias alimentarias y padecimientos de alergias alimentarias y/o ambientales. Se cuestionó sobre enfermedades autoinmunes concomitantes como síndrome de Sjögren, lupus, vitíligo y tiroiditis de Hashimoto; medicamentos y/o suplementos utilizados.

Para evaluar la actividad de la artritis reumatoide se utilizó el instrumento RADAI-5 (Cuadro 1). Asimismo, se aplicó una evaluación de síntomas por medio de la Escala de Valoración de Síntomas Gastrointestinales (Kulich *et al.*, 2008). Con una escala del 1 (nulo) al 10 (severo), los pacientes

calificaron sus síntomas en base a su severidad. El cuestionario se aplicó al inicio del estudio, luego, al iniciar la dieta con trigo, durante la dieta sin trigo y posteriormente al volver a su alimentación con trigo.

Además, se incluyó un cuestionario modificado para conocer la frecuencia de consumo de alimentos semanales por grupos de alimentos basado en el cuestionario utilizado por Guillot (2012). Los grupos incluidos son: grasas y aceites; bebidas azucaradas, verduras, frutas, arroz, avena, papa y maíz; carne, pollo, pescado y huevo; azúcares y golosinas; frituras y botanas; derivados de trigo, leguminosas, galletas y repostería; embutidos y derivados cárnicos; lácteos y edulcorantes o sustituto de azúcar.

Cuadro 1. Categorías de actividad de la enfermedad según RADAI-5

	Remisión	Leve	Moderado	Alto
Valor RADAI-5	0.0 – 1.4	1.6 – 3.0	3.2 – 5.4	5.6 – 10.0

5.3. Evaluación de la Permeabilidad Intestinal en Pacientes con Artritis Reumatoide

Para la evaluación de la permeabilidad intestinal, se solicitó a los pacientes no tomar medicamentos inmediatamente antes de la prueba, ni productos lácteos 24 h previas, además de tener ayuno de 8 a 10 h. A cada paciente se le dio a tomar una solución con 10 g de lactulosa (Lactulax, Laboratorios Senosiain, México) y 2.5 g de manitol (Sigma-Aldrich) disueltos en 50 mL de agua purificada (Cox *et al.*, 1999). A los 60 min post-ingestión de la solución, se tomó una muestra de 5 mL de sangre periférica, se centrifugó (Beckman Coulter, Allegra 25R, EUA) a 2500 rpm durante 10 min a 25°C, para obtener el suero y se precipitaron las proteínas con ácido sulfosalicílico al 70%. El sobrenadante se recolectó en microtubos de 1.5 mL Eppendorf y se centrifugó (Eppendorf Centrifuge 5417, EUA) a 2500 rpm durante 20 min a 25°C, y se almacenó a -40°C hasta su análisis. Se analizaron las concentraciones de lactulosa y manitol por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés). Se utilizó un cromatógrafo Thermo Scientific ultimate 3000 con detector refractomax 520 ECR Dionex, con una columna Microsorb 100-3 NH (100 x 4.6 mm, con fase móvil compuesta de acetonitrilo/agua (80:20), a una velocidad de flujo de 1

mL/min (Aguilar, 2017). Se calculó la relación lactulosa/manitol, además, los niveles normales de manitol no deben exceder 0.19 mmol/L (Cox *et al.*, 1999).

5.4. Análisis de Microbiota Fecal

A cada paciente se le proporcionó un recipiente de plástico estéril con tapa para coleccionar una muestra de heces fecales (5 g), así como las instrucciones de cómo tomar correctamente la muestra. Las muestras se colocaron en hielo y se transportaron inmediatamente al laboratorio para su análisis. De cada muestra, se extrajo el ADNg, mediante el kit comercial QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Alemania). Se midió la concentración de ADN extraído empleando un Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, EUA), y la calidad por la relación de absorbancia 280/260. La evaluación de bacterias totales y géneros específicos de la microbiota se hizo por amplificación del gen bacterial 16S ARNr, utilizando el protocolo de curva estándar en PCR tiempo real con el equipo StepOne Plus™ real time PCR system (Applied Biosystems, EUA).

Se cuantificaron las bacterias totales de las muestras utilizando los iniciadores universales: Fw: ACTCCTACGGGAGGCAGCAGT y Rv: GTATTACCGCGGCTGCTGGCAC (Walter *et al.*, 2000), para *Bacteroides* se utilizaron los iniciadores específicos Fw: AAGGTCCCCCACATTGG y Rv: GAGCCGCAAACCTTTCACAA (Manz *et al.*, 1996; Franks *et al.*, 1998) y para *Prevotella copri* Fw: CGAAAGCTTGCTTTTGATGG y Rv: CGCAAGGTTATCCCCAAGT (Verbrugghe *et al.*, 2021). Las condiciones de las amplificaciones para bacterias totales y para *Bacteroides* fue de 40 ciclos de 95°C x 10 min, 15 s, 58°C x 30 s, 72°C x 30 s para las bacterias totales y *Bacteroides* (Aguayo-Patrón *et al.*, 2021). Para *Prevotella copri*, se optimizaron condiciones, quedando como 40 ciclos de 95°C x 10 min, 15 s, 60°C x 1 min, 72°C x 30 s.

5.5. Intervención Dietética y Reto con Trigo

5.5.1. Dieta sin Trigo

A los pacientes seleccionados para el estudio se les indicó consumir alimentos con trigo (o gluten) diariamente durante una semana para que tuvieran un consumo similar antes de la fase de eliminación del trigo de la dieta y se evaluaron síntomas articulares y no articulares. Después, se les pidió consumir una dieta sin trigo durante cuatro semanas, evaluando los síntomas articulares (RADAI-5) cada semana. También, se midieron los síntomas gastrointestinales con una escala hedónica con rangos del 1 al 10, siendo 1 nulo y 10 severo; se aplicó durante las cuatro semanas. Se les dio orientación nutricional, así como una lista de alimentos que debían evitar, indicaciones para disminuir una posible contaminación cruzada y se mantuvo una comunicación directa con los pacientes en caso de alguna duda y para seguimiento durante la dieta sin trigo.

5.5.2. Aislamiento de Células Mononucleares

Al final de la dieta de cuatro semanas sin trigo a los participantes con AR, se les tomó una muestra de 8 mL de sangre periférica antes de volver a la dieta con trigo durante al menos 3 días; al día 6 de la reintroducción de trigo se tomaron 8 mL de sangre, y se evaluaron síntomas.

De cada muestra de sangre colectada al día 6 de iniciada la reintroducción de trigo en la dieta, se aislaron células mononucleares por la técnica de Ficoll-PaqueTM. Se mezcló la sangre 1:1 (v/v) en una solución amortiguadora de PBS estéril. Esta solución se colocó sobre una capa de Ficoll-PaqueTM PREMIUM (GE Healthcare Life Sciences) en una relación 1:3 (v/v) en tubos de 15 mL y se centrifugó a 1600 rpm por 35 min a 16°C. Se formaron 3 capas correspondientes a plasma, células mononucleares, seguido de Ficoll-PaqueTM y finalmente la capa correspondiente a glóbulos rojos. Con una pipeta se descartó la capa superior (plasma) y se colectó la capa correspondiente a las células mononucleares, evitando recolectar el Ficoll-PaqueTM. Las células recolectadas se lavaron en dos ocasiones con la solución amortiguadora de PBS, centrifugando a las mismas

condiciones, por 10 min para eliminar el Ficoll-Paque™ restante. El precipitado se resuspendió en 500 µL de DMEM con 10% de suero fetal bovino, L-glutamina, penicilina–estreptomina (Sigma Life Sci.). Por último, se cuantificaron las células mononucleares viables utilizando la tinción por exclusión de azul de tripano, empleando una cámara de Neubauer.

5.5.3. Reto con Gluten y Cuantificación de IL-6 e IFN- γ

Se cultivaron células mononucleares por duplicado de cada paciente en placas de 24 pozos y un control sin estimular. Se retaron durante 20 h las células con gluten digerido (con pepsina/tripsina), para promover la producción de citocinas. El medio de cultivo de cada ensayo se recolectó en alícuotas y se almacenó a -70°C hasta su cuantificación.

La cuantificación de IL-6 e IFN- γ se realizó por ELISA, con buffer de cubierta (pH 9.6, 35 mM NaHCO₃, 15 mM Na₂CO₃ y 0.05% Rojo Fenol) y buffer de lavado/dilución (Tris 0.1M / HCl pH 7.4, 0.05% Rojo Fenol, 0.05% Tween 20 y 15 mM NaN₃). Se incubó durante la noche una microplaca con las soluciones de prueba (1:1) en doble dilución seriada. Después de tres lavados, se bloqueó 1 h con gelatina de pescado al 2%, se volvió a lavar tres veces y se incubó 2 h con anticuerpos de conejo contra IFN- γ o contra IL-6 (PreproTech, EUA), en dilución 1:2000. Posterior a 3x lavados, se incubó 1 h con anticuerpos de cabra anti-IgG de conejo marcados con HRP de Dako (Dinamarca) en dilución 1:2000. Se lavó y se desarrolló con TMB (10 mg en ácido acético 2 M) y H₂O₂ (al 30 %), terminando la reacción con H₂SO₄ 1 M. Se leyó a 450 nm en un lector de ELISA (BioRad iMark™ Microplate Absorbance Reader). Para cuantificar, se usaron curvas estándar de IFN- γ en concentraciones de 121 a 15,600 pg/mL e IL-6 en concentración de 121 a 2000 pg/mL.

5.5.4. Prueba de Intolerancia a Fructanos

A los pacientes se les realizó una prueba de intolerancia a fructanos por aliento espirado, con el método utilizado por Chávez (2016). El día de la prueba, posterior a un ayuno de 8-10 h y evitando

el uso de dentífrico esa mañana, se tomó a cada uno aliento (basal) y se le suministró una dosis de 17.5 g de inulina de agave (conteniendo 8 g de fructanos) en 250 mL de agua. Después de la dosificación, se tomaron 7 muestras de aliento espirado, la primera hora cada 20 min y después cada 30 min, durante 2 h. Se registraron síntomas y cuantificó H₂ espirado en un cromatógrafo de gases MicroLyzer mod CM-2 (Quintron, Milwaukee, WI), previamente calibrado. Los valores ≥ 20 ppm respecto al basal, se consideran positivos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Características de las Pacientes con AR

6.1.1. Historia Clínica e Índice de Actividad de la Enfermedad

Aceptaron participar en el estudio 6 pacientes (todos femeninos) con artritis reumatoide diagnosticada por un médico especialista en reumatología y firmando un consentimiento informado. La edad promedio de las pacientes fue de 47 años y en promedio 15.3 años de diagnóstico de la enfermedad. Todas las pacientes indicaron que su artritis se encontraba activa; de los seis pacientes, cuatro fueron positivos a factor reumatoide. Ningún paciente reportó hacer actividad física (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características generales de las pacientes

Datos	Pacientes					
	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Sexo (M/F)	F	F	F	F	F	F
Edad (años)	53	32	39	58	58	42
Tiempo con Dx* (años)	25	1	10	17	22	17
Factor reumatoide	-	+	+	-	+	+
Actividad física	S e d e n t a r i o					

*Dx: diagnóstico.

Solo dos pacientes (P3 y P5) declararon un índice de actividad de la enfermedad por artritis reumatoide (RADAI-5) leve o bajo, mientras que tres de ellos (P1, P4, P6) tenían un índice

moderado y por último el paciente (P2) con el diagnóstico más reciente, declaró un índice alto, lo cual indica que todos las pacientes estaban con artritis reumatoide activa (Figura 1).

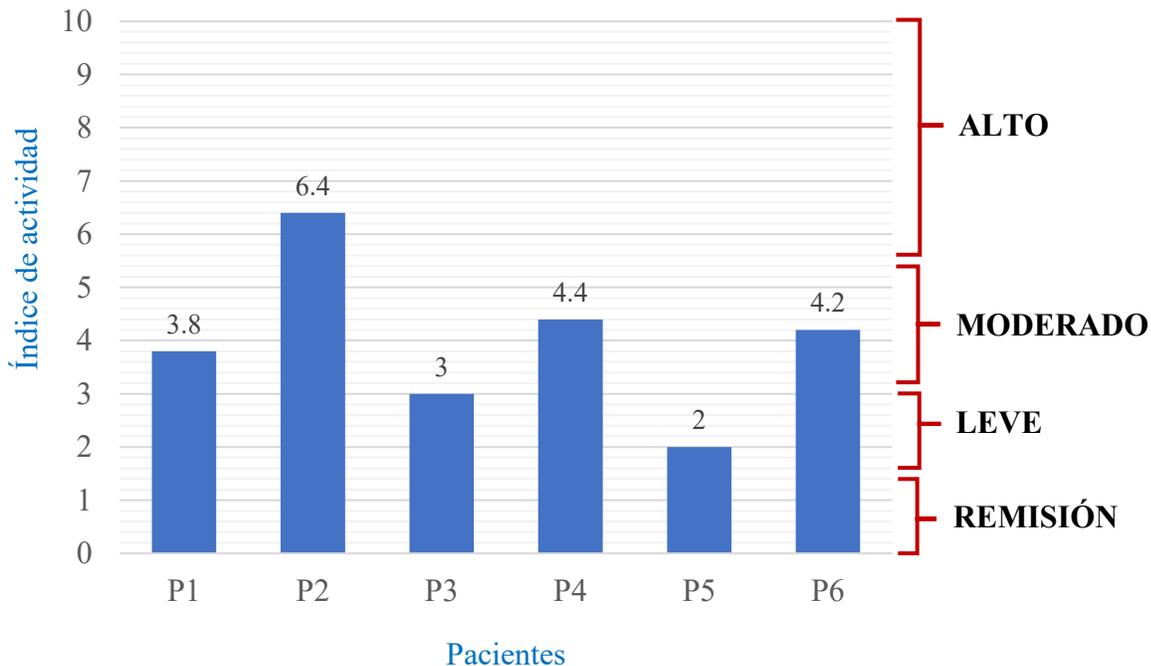


Figura 1. Índice de actividad de la enfermedad por artritis reumatoide (RADAI-5)

Según la historia clínica, solamente una paciente (P5) sufría otras enfermedades autoinmunes concomitantes, vitíligo y Síndrome de Sjögren (SS). El SS tiene una prevalencia mundial del 19.5% en pacientes con artritis reumatoide y en Estados Unidos es cerca del 10.3% (Alani *et al*, 2018; Brown *et al*, 2015). Estas dos enfermedades también se ven beneficiadas de una dieta sin gluten al mejorar sintomatología, en el caso del SS, y al disminuir la despigmentación en el caso del vitíligo (Haupt-Jorgensen *et al.*, 2020; Khandalavala & Nirmalraj, 2014)

Los síntomas no articulares que predominaron en las pacientes con AR fueron la fatiga y entumecimiento, los cuales serían causados por la naturaleza de la enfermedad. Sin embargo, es evidente que en estas pacientes existe algún tipo de alteración a nivel intestinal ya que cuatro presentaban alguna intolerancia alimentaria; principalmente a lactosa, dos de ellas gastritis y tres

padeían síndrome del intestino irritable con diagnóstico médico hecho por un especialista (Cuadro 3). Esta evaluación también mostró que la mayoría de las pacientes tenían distensión abdominal y la mitad de ellas presentaban dolor abdominal, sonidos intestinales, flatulencias y sensación de evacuación incompleta. Las pacientes desconocen la causa de los síntomas gastrointestinales (GI), pero los asocian a la alimentación, ya que algunas identifican que ciertos alimentos les provocan malestares.

Cuadro 3. Antecedentes patológicos de las pacientes

Paciente	Enfermedades autoinmunes	Alergias	Intolerancias alimentarias	Enfermedades gastrointestinales	Infección intestinal
P1	-	Polvo	Lactosa	SII, Gastritis	
P2	-	Polvo	Lactosa	-	-
P3	-	-	-	SII	Salmonelosis
P4	-	Carne de cerdo	-	-	-
P5	Vitíligo, SS	Bellotas	Lactosa, Arroz	SII, Gastritis, Úlcera	
P6	-	-	Lactosa	-	-

SII: Síndrome del intestino irritable, SS: Síndrome de Sjögren

6.1.2. Medicamentos y Suplementos Utilizados por las Pacientes

Como parte de la historia clínica se preguntó a las pacientes por sus tratamientos; 2 de ellas (P2 y P3) tuvieron algún cambio de medicación ya iniciado el presente estudio. Las pacientes P1, P2 y P3 tomaban antiinflamatorios no esteroideos (AINES), P3 tomaba 3 diferentes. P1 y P3 tenían aproximadamente 10 años con esa prescripción. Las pacientes P1, P2, P3, P4 utilizaban fármacos antiinflamatorios modificadores de la enfermedad (FARMEs); P1 y P4 tenían años utilizándolos, mientras que P2 y P3 solo meses. P5 tomaba glucocorticoides (3 años) y solo P4 analgésicos (1 año). Ninguna estaba bajo terapia de biológicos, aunque algunas pacientes ya los habían utilizado sin mejoría. El uso de suplementos alimenticios es común y necesario en estos pacientes, lo pudimos confirmar en 5 de ellas (P1, P2, P3, P5, P6).

Los medicamentos más utilizados fueron los AINES y FARMES. El uso de medicamentos de primera línea como los antes mencionados, en este tipo de pacientes puede impactar la salud intestinal y provocar efectos adversos como distensión abdominal, diarrea, náuseas o reflujo gastroesofágico. La inflamación sistémica que provoca la AR puede tener un rol importante en el desarrollo de estos malestares GI y hace falta investigar el mecanismo por el cual se generan (Myasoedova *et al.*, 2011; Sansón-Riofrío *et al.*, 2017). Es evidente que el consumo de AINES ha aumentado debido a su accesibilidad (sin prescripción médica) y el aumento de diversas enfermedades, como las reumatológicas. Sin embargo, un consumo excesivo como en pacientes con AR, puede tener consecuencias a nivel gastrointestinal, como aumento de la permeabilidad intestinal, inflamación de la mucosa intestinal, malabsorción, diarreas, úlceras, estenosis y perforación (Bielsa-Fernández *et al.*, 2020).

En cuanto a suplementos, el más utilizado fue la vitamina D, ya que su deficiencia es común en pacientes con AR y juega un papel importante en muchas patologías, incluidas las mediadas por el sistema inmune como las autoinmunes; sin embargo, aún se desconocen los mecanismos de acción. Ante el creciente interés científico sobre esta vitamina, se sugiere su uso temprano a pesar de las controversias, ya que sus bajos niveles, se asocian a una mayor actividad de la AR (Ishikawa *et al.*, 2017). Asimismo, su deficiencia aumenta el riesgo de que estos pacientes padezcan de osteoporosis, que es muy común por el consumo de glucocorticoides (Bellan *et al.*, 2017).

6.1.3. Frecuencia de Consumo de Alimentos

A las pacientes se les aplicó un cuestionario de frecuencia de consumo semanal de alimentos, donde se evaluaron grupos de alimentos como lácteos, productos cárnicos, frutas y verduras, derivados del trigo, otros cereales, leguminosas, aceites y grasas, azúcares refinados, frituras y edulcorantes. Los alimentos que más consumían las pacientes fueron los productos cárnicos, verduras, frutas, aceites y grasas (Cuadro 4). Durante la entrevista las pacientes comentaron que trataban de comer lo más “sano posible”. De los resultados del cuestionario, podemos inferir que ciertamente restringían algunos alimentos como galletas, repostería, frituras, embutidos y tenían un consumo suficiente de frutas y verduras y un consumo moderado de azúcares, bebidas azucaradas y golosinas; aun así, tenían un alto consumo de grasas. Sin embargo, tres de las pacientes (P1, P2 y

P6) consumían al menos 3 veces por semana, alimentos ultraprocesados, como golosinas, embutidos, galletas, frituras y botanas.

Por lo anterior, aunque no podemos inferir que las pacientes llevaran una dieta totalmente occidentalizada, debemos resaltar que requieren de una orientación nutricional hecha por un profesional. Esto, para evitar el desarrollo de otras enfermedades crónico-degenerativas como diabetes y enfermedades cardiovasculares, a las cuales ya son propensas por la naturaleza de la AR (Curtis *et al*, 2018).

La paciente P5 mencionó tener una dieta sin gluten por más de 3 años y sentirse bien sin consumirlo, lo cual pudimos comprobar con el índice RADAI-5 (leve) y con el cuestionario de síntomas GI. También, la paciente P3 reportó evitar alimentos con gluten, no obstante, tenía un consumo poco frecuente de pan de centeno, por lo tanto, no evitaba el gluten en su totalidad. La paciente P3 a pesar de tener un índice RADAI-5 como leve, presentaba molestias GI, posiblemente como consecuencia del SII diagnosticado. La paciente P1, de manera intermitente evitaba consumir productos con trigo, refirió que se sentía mal después de consumirlo.

Cuadro 4. Frecuencia de Consumo Semanal de Alimentos

Grupo de alimentos	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Lácteos	7	0	0	7	0	4
Carne, pollo, pescado y huevo	7	5	5	6	7	5
Embutidos	0	0	0	2	0	5
Verduras	7	7	7	7	7	5
Frutas	7	5	3	4	7	1
Derivados del trigo	3	3	0	3	0	4
Arroz, avena, papa y maíz	3	1	3	4	3	3
Leguminosas	2	6	1	7	2	2
Aceites y grasas	7	7	1	7	7	7
Azúcares, bebidas y golosinas	4	3	3	3	1	4
Galletas y repostería	4	3	0	0	0	3
Frituras y botanas	0	2	0	0	1	3
Sustituto de azúcar	0	0	7	0	7	0

6.2. Preservación de la Barrera Intestinal

Para descartar que el efecto del gluten fuera por enfermedad celíaca y no como consecuencia de la AR, se realizó la determinación de anticuerpos IgA e IgG anti- gliadinas y a IgA anti-transglutaminasa de acuerdo a los protocolos del Laboratorio de Proteínas de CIAD (Cabrera-Chávez *et al.*, 2009). Ninguna de las seis pacientes presentó anticuerpos asociados a enfermedad celíaca.

Por no presentar positividad de IgG contra gliadinas, podríamos inferir que la permeabilidad intestinal de nuestras pacientes con AR, no estaba afectada; sin embargo, se trata solo de una evidencia indirecta. Esto, en función de que cuando hay daño epitelial causado por procesos inflamatorios, los antígenos pueden permear a la lamina propia y desencadenar la producción de anticuerpos IgG específicos, que, a su vez, podrían afectar aún más la permeabilidad intestinal. Así, de la presencia de anticuerpos IgG específicos contra antígenos dietéticos se podría inferir que la barrera intestinal se encontraría afectada (Gocki & Bartuzi, 2016).

Por los datos obtenidos de la entrevista, podemos deducir que la mayoría de las pacientes trató de cuidar su alimentación; sin embargo, algunos de ellos aun presentaban síntomas intestinales de causa desconocida, además de los síntomas articulares. Al tener una muestra tan pequeña, era poco probable encontrar enfermedad celíaca concomitante con AR, como en el estudio de Castillo-Ortiz *et al.* (2010). De 85 pacientes estudiados, estos autores encontraron 16 con anticuerpos positivos al gluten y destacan la relación entre AR y la enfermedad celíaca y las alteraciones gastrointestinales causadas por la antigenicidad del gluten, aunque, no se realizaron biopsias para confirmar la celiaquía.

Con el análisis de anticuerpos asociados a enfermedad celíaca, se descarta que el posible efecto del trigo en los síntomas, se deba a esta enfermedad en los pacientes con AR. Además, si hubiera perturbación de la permeabilidad intestinal, no se podría atribuir a daño en la mucosa por enfermedad celíaca.

Por otro lado, para confirmar la inferencia sobre la salud de la barrera intestinal, se hizo un ensayo de permeabilidad a lactulosa y manitol, una prueba no invasiva. El principio consiste en que el manitol es un monómero que funciona como marcador de absorción transcelular y la lactulosa es un dímero que también sirve como marcador en este caso paracelular, solo se absorbe cuando la

integridad de la mucosa está alterada. Por lo tanto, una elevada absorción de lactulosa en sangre es un indicador de permeabilidad intestinal aumentada. Esta prueba se ha utilizado como apoyo para el diagnóstico de diferentes patologías como enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal y síndrome del intestino irritable (Musa *et al.*, 2019; León-Barúa *et al.*, 2014).

Coincidiendo con la inferencia hecha en base a los anticuerpos contra antígenos de la dieta, nuestras pacientes no presentaron permeabilidad alterada; los seis, tuvieron nula absorción de lactulosa y absorción normal de manitol (<0.19 mmol/L). Probablemente, no presentaron alteraciones en la barrera intestinal por la dieta que llevan, ya que consumían una cantidad suficiente de frutas y verduras. Conforme a Häger *et al.* (2019), el consumo o suplementación de fibra, beneficia la homeostasis del intestino al reducir el marcador de inflamación intestinal calprotectina y el marcador de la barrera intestinal zonulina, en pacientes con AR. La zonulina se secreta por las células epiteliales por estímulo de la dieta o microbiota, es un regulador de las uniones estrechas y de la función de la barrera intestinal. La apoptosis de estas células epiteliales favorece un ambiente proinflamatorio incluido la diferenciación de células Th17 autorreactivas y otras células T cooperadoras (Tajik, 2020).

Otro factor que pudiera estar favoreciendo la homeostasis intestinal de nuestros pacientes es el consumo de los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FARMEs), ya que todas las pacientes mencionaron haber utilizado estos fármacos en algún momento. De acuerdo con Tajik *et al.* (2020), las participantes que consumían FARMEs tenían niveles de zonulina menores a los que recibían un tratamiento convencional.

6.3. Efecto de los Componentes del Trigo Dietario

Para iniciar la dieta sin trigo durante cuatro semanas bajo las mismas condiciones, se les solicitó a las pacientes un consumo mínimo de 8 g de gluten al día durante una semana. Esto porque P3 y P5 tenían años sin consumir trigo y la paciente P1 tenía 2 semanas en una dieta sin gluten. Después de la semana donde todas las pacientes consumieron trigo se hizo una evaluación inicial de actividad de la AR (RADAI-5) y síntomas no articulares. Si comparamos la primera evaluación de RADAI-

5 hecha al inicio del estudio en el mes de marzo y la realizada después de una semana de consumir 8 g de gluten diariamente, en julio del mismo año, el índice aumentó, aunque no en gran medida (Cuadro 5). El incremento fue de entre 14 y 22% en las pacientes P1, P2 y P4, mientras que en P5 el aumento fue del 240%. De acuerdo a los rangos de clasificación de RADAI-5 (Leeb *et al.*, 2014) solo en esta paciente P5 hubo aumento en el índice, que fue de leve a alto, quien además mencionó tener por algunos minutos, tos y una sensación de tener algo en la garganta y la necesidad de aclararla, después de comer alimentos que contenían trigo.

Cuadro 5. Índice RADAI-5 a la entrevista y a la semana con 8 g/d de gluten

Paciente	Feb. – Mar., 2021	Julio, 2021
P1	3.8	4.6
P2	6.4	7.8
P3	3	3
P4	4.4	5
P5	2	6.8
P6	4.2	4

Asimismo, se dieron síntomas no articulares durante la semana de homologación en el consumo de trigo. Los más comunes fueron: sonidos intestinales, distensión abdominal, flatulencias, heces blandas, sensación de evacuación incompleta, dolor de cabeza y rinitis. Si se compara con los declarado en la primera entrevista, la mayoría de las pacientes tuvieron un aumento en la cantidad de síntomas, aunque solo en un caso (P5), ligados a la actividad de la AR.

Posterior a la semana de consumir 8 g de gluten al día, a las pacientes se les pidió evitar alimentos con trigo, se les dio orientación nutricional a todas ya que algunos desconocían qué alimentos podían contenerlo. Para la orientación nutricional se les entregó infografía con alimentos permitidos y no permitidos, se explicó cómo evitar contaminación cruzada, consejos para cuando comieran fuera de casa; además, atención personalizada 24/7 por si surgía alguna duda al momento de ingerir alimentos. Para evaluar el apego a la dieta se utilizó el método de autopercepción de la adherencia (Balas-Nakash *et al.*, 2010), consistente en preguntar a las pacientes, durante las 4

semanas de la dieta sin trigo, cómo calificarían su cumplimiento al plan de alimentación en un rango de 0 – 100%. Declararon menor adherencia las pacientes P1 (1 semana) y P3 (3 semanas), aunque no menor al 80% según su percepción.

Un factor que algunas pacientes (P2, P3, P4) mencionaron que influía al momento de calificar sus síntomas articulares fue el clima, acostumbradas al calor y clima seco, durante 3 semanas hubo un clima húmedo. Lo anterior coincide con lo propuesto por Azzouzi & Ichchou (2020) y Vaks & Sjöström (2015) que los pacientes con AR son sensibles a los cambios de clima sobre todo de humedad y que se benefician de climas secos. Los autores explican que una posible razón sería la disminución a la exposición al sol, por lo tanto, a una menor síntesis de vitamina D. Esto, podría aumentar o disminuir los síntomas dependiendo de los niveles en los que se encuentre. Aunque, la explicación anterior posiblemente solo aplique en países donde la luminosidad es poca durante la mayor parte del año.

Una vez iniciada la dieta sin trigo, en 5 pacientes (P1, P2, P3, P5, P6) descendió el valor del índice RADAI-5 (Figura 2), sobre todo durante la segunda y tercera semana evitándolo, sin cambios notorios en categoría. En dos casos (P3 y P6) hubo disminución en una categoría; el único caso con un cambio notorio fue el de la paciente P5 quien disminuyó de la categoría ALTA hasta REMISIÓN, y así se mantuvo durante 4 semanas, regresando rápidamente a MODERADO al reintroducir trigo. En el caso P1 en donde no se dio disminución significativa de síntomas en dieta sin trigo, sí hubo aumento drástico de dos categorías de BAJO a ALTO, en la reintroducción

La mayoría de las pacientes a pesar de no reportar grandes cambios en su índice RADAI-5 (Figura 2) mencionaron sentir menor rigidez matutina, mejor estado de ánimo, disminución de síntomas intestinales y mejoría en su salud en general, en la dieta sin gluten. También se les preguntó si consideraban que el trigo tiene relación con sus síntomas a lo cual cinco pacientes (P1, P2, P4, P5, P6) estuvieron de acuerdo en que influye en los síntomas articulares y no articulares. Además, se les preguntó a esas cinco pacientes que si seguirían incluyendo el trigo en su dieta y contestaron que lo evitarían dentro de sus posibilidades e intentarían identificar otros alimentos que les producen malestares. Los comentarios sobre la percepción sin evidencia física, habla de hipersensibilidad visceral, como lo padecen por síndrome de intestino irritable.

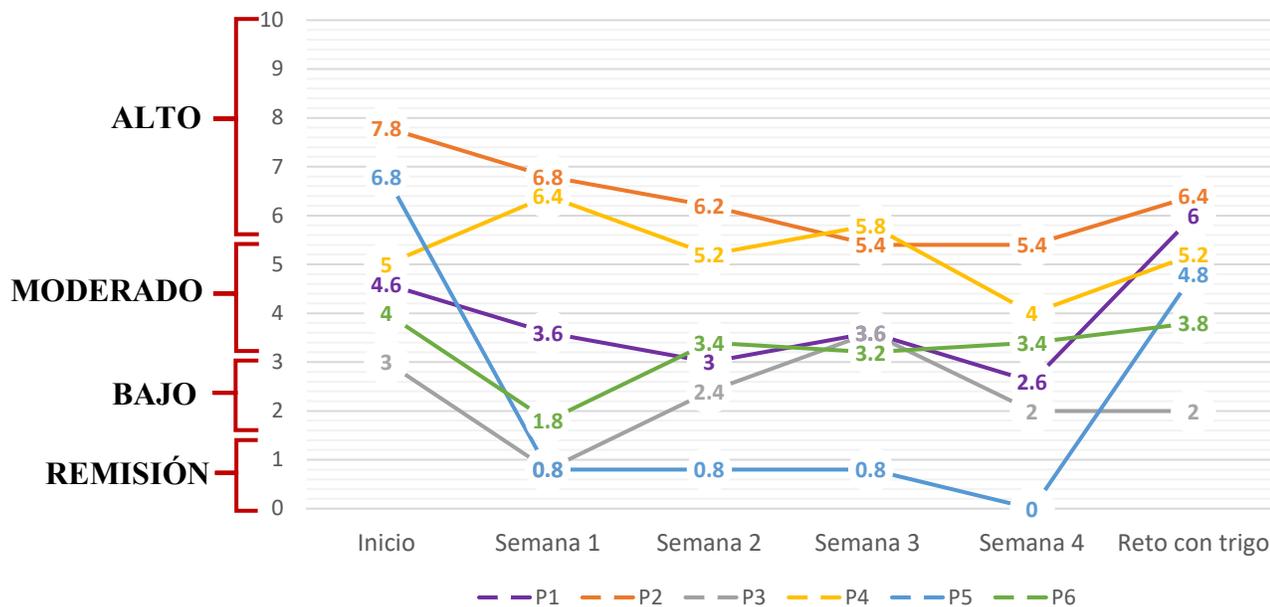


Figura 2. Índice RADAI-5 durante la intervención nutricional sin trigo

Recientemente (Bruzese *et al.*, 2021) evaluaron la respuesta a una dieta sin gluten de 4 pacientes con AR que no mejoraban con el tratamiento convencional. Utilizaron DAS28 (Disease Activity Score) para evaluar la actividad de la AR; todos los pacientes respondieron de manera positiva disminuyendo su puntaje de DAS28 de manera significativa. Asimismo, mencionaron que la dieta sin gluten potencialmente serviría como coadyuvante al tratamiento farmacológico. Lo anterior lo podemos comparar con las características de la paciente P5 que tuvo por muchos años un tratamiento convencional, tres tipos de terapias de biológicos y nada funcionaba hasta que empezó a excluir el trigo de su dieta, lo cual le benefició al grado de tomar actualmente solo un medicamento.

Otro estudio reciente (Tani *et al.*, 2020), se realizó en pacientes intervenidos con una dieta sin gluten por 16 semanas, evaluando DAS28-CRP, que incluye valores de proteína C reactiva, CDAI, anticuerpos anti-péptido cíclico citrulinado, como marcadores de inflamación. Similar a nuestros resultados, se encontró que los pacientes que se apegaron mejor a la dieta, mejoraron más. Sin embargo, mencionaron que los pacientes que respondían a la dieta tenían menores niveles de anti-péptido cíclico citrulinado, que los que no respondieron. Así, podría haber relación entre la respuesta a una dieta sin gluten y el anti-péptido citrulinado, lo que explicaría que, en la mayoría de nuestras pacientes, la mejoría de síntomas no fue sustantiva.

Además, en pacientes que logran una remisión de al menos 6 meses, pueden reducir gradualmente el uso de fármacos con ayuda del médico; buscando mantener una actividad baja de la enfermedad, menor dosis y menor uso de fármacos (Lin *et al.*, 2020). Tal vez solo pudimos confirmar el progreso de la paciente P5 ya que posiblemente los efectos de este tipo de restricciones dietarias sean mensurables a largo plazo, reduciendo la actividad de la enfermedad, las dosis de medicamentos y mejorando en general los pronósticos de estos pacientes (Gioia *et al.*, 2020).

En cuanto a síntomas no articulares, los más frecuentes fueron: sonidos intestinales, distensión abdominal, flatulencias, heces muy blandas, sensación de evacuación incompleta, dolor de cabeza, fatiga y entumecimientos de brazos y piernas. A pesar de que los síntomas más frecuentes prevalecieron, su severidad disminuyó ligeramente en algunas pacientes; solo hubo cambio sustantivo en la paciente P5.

Por último, al finalizar las cuatro semanas de una dieta sin trigo, se les pidió a las pacientes que volvieran a su dieta habitual con trigo por 3 días para realizar un reto *ex vivo*. Durante estos 3 días las pacientes mencionaron sentirse mal y notar “una diferencia” entre las semanas cuando consumieron trigo y cuando no.

En consecuencia, podríamos inferir que podría tratarse de una sensibilidad al trigo no celiaca (Volta *et al.*, 2019), ya que los síntomas ocurrían durante las primeras horas después de consumir algún alimento con trigo. Las manifestaciones intestinales de los pacientes al ingerir trigo, son los mismos mencionados por diversos autores para el diagnóstico de sensibilidad no celiaca al trigo (Catassi *et al.*, 2015). La disminución de al menos 30% en la escala de algunos de los síntomas de los pacientes al dejar el trigo, apunta hacia sensibilidad al trigo no celiaca. Algunos síntomas gastrointestinales en pacientes con AR, podrían ser causados por medicamentos (Asai *et al.*, 2019). Tal vez debido a eso, solo en 2 de nuestras pacientes (P1, P5), estos síntomas se vieron disminuidos significativamente en la dieta sin trigo (Figura 3).

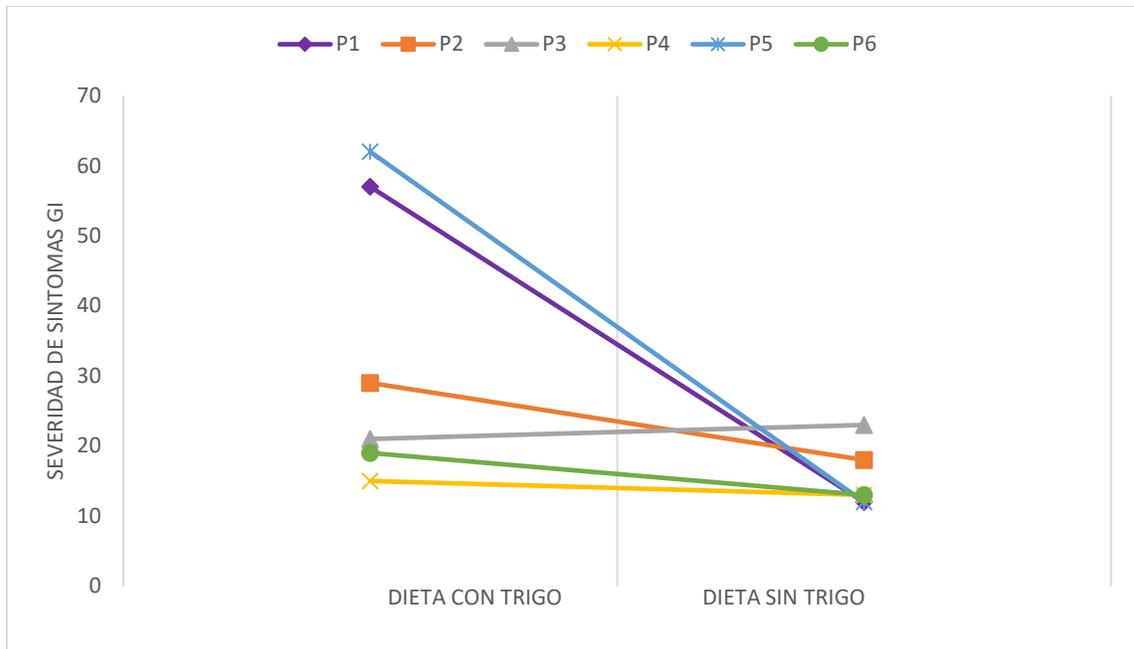


Figura 3. Síntomas gastrointestinales en la dieta sin trigo

Como una verificación de que los síntomas por el consumo de alimentos con trigo pudieran deberse a sus fructanos y no a las proteínas del gluten, se hizo una prueba de intolerancia con producción de hidrógeno (H₂) espirado.

Cuadro 6. Resultados de las pruebas de intolerancia a fructanos

Paciente	H ₂ espirado	Síntomas
P1	-	+
P2	-	-
P3	-	-
P4	-	-
P5	-	-
P6	-	+

Ninguna de nuestras pacientes resultó intolerante a fructanos (Cuadro 6); sin embargo, dos tuvieron síntomas, una durante la prueba (P6) y otra después de la prueba (P1). Cuando las pruebas de

intolerancia provocan síntomas, podrían atribuirse a hipersensibilidad visceral. Si los síntomas se presentan horas después de finalizada la prueba, podría tratarse de tránsito intestinal lento, por lo que la duración de la prueba no fue suficiente para la detección del hidrógeno espirado debido a intolerancia (Rivera et al., 2016; Gasbarrini et al., 2009). Se considera que hay hipersensibilidad visceral cuando el umbral del dolor intestinal es menor al del promedio, como ocurre en quienes padecen el síndrome de intestino irritable (Farzaei *et al.*, 2016).

La prueba anterior podría explicar los síntomas intestinales en las pacientes P1 y P6 durante la reintroducción de trigo a la dieta después de 4 semanas, pero no explica los cambios en los síntomas articulares, ya que estos síntomas no se presentaron después de la prueba de intolerancia. De esta información inferimos que los fructanos no son la causa de los cambios en los síntomas articulares de nuestros pacientes, cuando consumen productos de trigo.

6.4. Respuesta a Reto *ex vivo* con Péptidos de Gluten

Para el reto *ex vivo*, se tomó una muestra de sangre periférica a cada paciente en dos ocasiones: “día 0” y “día 6”. El día 0 fue antes de reintroducir el trigo a su dieta durante tres días y el día 6 fue el sexto de iniciada la reintroducción. Posterior al aislamiento, las células mononucleares se cultivaron por duplicado en placas de 6 pozos, con aproximadamente 2.0×10^5 células/mL en cada pozo y un control negativo sin retar con péptidos de gluten. Se retaron las células por 18 h a 37°C, en atmósfera de 37% de O₂ y 5% de CO₂. Se colectó el medio de cultivo en alícuotas y se almacenó a -70°C hasta la cuantificación de citocinas.

Lo anterior, se hizo con la premisa de que el gluten de trigo podría activar a las células mononucleares por lo tanto estimular la producción de citocinas proinflamatorias como IL-6 e IFN- γ (Di Liberto et al., 2016) y a su vez promover la inflamación articular. Desde hace 25 años se sospecha que los linfocitos del tejido linfoide asociado a la mucosa intestinal de pacientes con AR, podrían migrar hacia el líquido sinovial, planteando la existencia de un eje intestinal - articular (Kadioglu & Sheldon, 1996). Es decir, estos linfocitos circulantes se originan en el intestino y migran a las articulaciones contribuyendo a la actividad de la enfermedad (Warjri *et al.*, 2015).

Sin embargo, al cuantificar las citocinas después de retar las células mononucleares de sangre

periférica de las pacientes, no obtuvimos resultados positivos para IL-6 ni para IFN γ . Probablemente, la respuesta inmunitaria en las pacientes no se exacerbe debido a las proteínas del gluten.

Una posible causa por la cual no se encontró positividad en el reto, es que la mayoría de las pacientes (5/6) toman algún tipo de medicamento inmunosupresor como los esteroides y los FARMES, incluso algunos pacientes toman 2 tipos de fármacos antirreumáticos. Las pacientes P2 y P3 empezaron a tomar un FARME nuevo después de la primera entrevista (antes de la dieta sin trigo) y durante la dieta sin trigo, respectivamente. Posiblemente debido a esto, la respuesta de sus células mononucleares al reto con trigo, fue nula.

En los pacientes con AR, los esteroides se utilizan para regular la respuesta inflamatoria e inmunitaria, disminuyendo citocinas proinflamatorias (incluidas IL-6 e IFN γ) y células T periféricas (Lieberman *et al.*, 2018). Los FARMES como el metrotexato, sulfasalazina, hidroxiclороquina e leflunomida, también actúan como inmunosupresores. La leflunomida e hidroxiclороquina disminuyen la proliferación de linfocitos y de citocinas proinflamatorias (Monteagudo *et al.*, 2002; Danza *et al.*, 2016). El metrotexato posiblemente interviene inhibiendo la enzima JAK, una de cuyas funciones es la activación de cascadas inflamatorias y respuestas de células inmunitarias (Gremese *et al.*, 2019); otra función es, desencadenar una respuesta inhibitoria cuyas consecuencias es la apoptosis de linfocitos activados y disminución de citocinas proinflamatorias (Ortiz *et al.*, 2001). Se desconoce el mecanismo exacto por el cual actúa la sulfasalazina. Sin embargo, se sabe que interviene a nivel intestinal porque también es utilizado para la colitis ulcerosa (Choi & Fenando, 2021). No obstante, dependiendo de la dosis, puede inhibir citocinas proinflamatorias en células mononucleares de sangre periférica (Krakauer, 2015). Se ha comprobado en diferentes estudios (Zaiss, *et al.* 2021) que en la espondilitis anquilosante se presenta inflamación intestinal subclínica, que ocurre en más del 50% de los pacientes sin importar si usan AINES o no. Esta inflamación es consecuencia de la expansión de células innatas aberrantes activadas, que tienen la capacidad de alcanzar lugares extra-intestinales y además promover la inflamación. También, encontraron que la disbiosis intestinal puede contribuir a la inflamación intestinal en estos pacientes. Este hecho, hace pensar que podría existir un mecanismo similar con la AR, ya que tiene características comunes con la espondilitis anquilosante.

6.5 *Bacteroides* y *Prevotella copri* Fecal de Pacientes con AR

Se analizó acumulación de *Bacteroides spp* y de *Prevotella copri*, en relación a bacterias totales en heces de las pacientes. En cuanto a *Bacteroides spp*, su proporción fue muy alta, entre 40 y 60% en 4 de las 6 muestras analizadas, mientras que *P. copri* no se detectó en ninguna de las muestras (Figura 4).

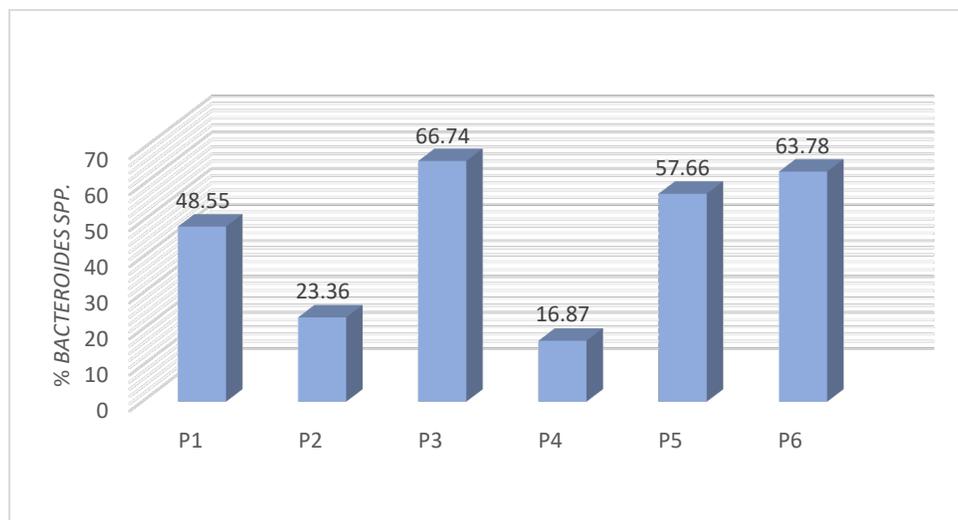


Figura 4. Abundancia relativa de *Bacteroides spp.* en heces

Diversos factores pueden afectar la composición de la microbiota, como enfermedades de diversa naturaleza, incluyendo las autoinmunes, así como la dieta (Deehan & Walter, 2016). *Bacteroides spp* predomina en una dieta donde el consumo de proteína animal y grasas saturadas es más elevado, como en la dieta de la paciente P5, así como en patrones dietarios ultraprocesados, como los de P1 y P6 (Guerreiro *et al.*, 2018); así mismo se asocia con enfermedades autoinmunes activas, como la celiaquía y la diabetes tipo 1.

Por su parte, el predominio de *Prevotella spp*, se asocia con dieta alta carbohidratos, azúcares simples y fibra; se considera positiva, especialmente cuando hay control de la diabetes tipo 1 (Mejía León *et al.*, 2016; Calderón de la Barca *et al.*, 2020). Sin embargo, las proporciones bajas de *Prevotella copri*, se asocian con disminución de síntomas articulares (Paolino *et al.*, 2019). Quizá

debido a que nuestras pacientes estaban controladas con tratamiento farmacológico, no se detectó *P. copri*. Además, de que refirieron no haber tenido crisis de artritis en los últimos años a excepción de la paciente P2 que tenía 1 año de diagnóstico.

La microbiota per se o en conjunto con la dieta, tienen la capacidad de producir metabolitos que afectan positiva o negativamente la respuesta inmune. Por ejemplo, el metabolito proinflamatorio n-óxido de trimetilamina producido por *P. copri* y otras bacterias, proviene de la colina y la carnitina en la carne roja, huevos y lácteos (Bustamante *et al.*, 2020). En cambio, algunos de los ácidos grasos de cadena corta, promueven la activación de células T reguladoras, que a su vez suprimen la activación, proliferación y producción de citocinas por las células T CD4+ y T CD8+ y probablemente a los linfocitos B y células dendríticas (Zaiss *et al.*, 2021).

Como se comentó previamente, nuestras pacientes P1, P3 y P5 habían modificado su dieta aumentando el consumo de carnes y grasas, en el intento de evitar alimentos con trigo y azúcares simples. Eso podría explicar la preponderancia de *Bacteroides* spp, comparado con P2 y P4 que no modificaron su dieta. En cuanto a P6, comentó que comía la mayoría del tiempo fuera de casa a causa de su profesión, lo que coincide con la acumulación tan alta de *Bacteroides* (64%).

Evaluando la microbiota, en China, con 66 pacientes demostraron aumento de *Bacteroides* y disminución de *Lactobacillus*, que consideraron característico de los pacientes con AR (Sun *et al.*, 2019). Un tanto contrastante el hallazgo en modelo murino con artritis inducida, en donde la reducción de *Bacteroides* spp. se asoció a un ambiente local proinflamatorio al reducir la diferenciación de células T CD4+ en células Treg (Zaiss *et al.*, 2021).

En un estudio en Estados Unidos, identificaron que pacientes sin tratamiento y diagnóstico reciente con AR aumentaron la acumulación de *Prevotella* con predominancia de *P. copri* y disminución de *Bacteroides* y bacterias benéficas (Scher *et al.*, 2013). Así mismo en pacientes en periodo subclínico o presintomático, hubo predominio de *Prevotella copri* (Maeda *et al.*, 2016; Alpízar-Rodríguez *et al.*, 2019). En otro estudio en población japonesa, otras especies de *Prevotella* estaban aumentadas, no solamente *P. copri* (Kishikawa *et al.*, 2020). Así, se propone que *Prevotella* spp. podría ser patogénica en la AR. Sin embargo, los métodos usados para el análisis de microbiota tienen limitaciones (Inamo, 2019; Sun & Ni, 2020). Por esto, la disbiosis podría ser consecuencia de la patología y no un factor causal y que *Prevotella* spp. podría ser benéfica en AR, como lo es la cepa *Prevotella histicola* (Horta-Baas *et al.*, 2017).

A nuestro conocimiento, no hay trabajos publicados sobre acumulación de *P. copri* en pacientes con

AR controlada bajo tratamiento, como en nuestro trabajo. Los tratamientos mismos pudieron influir en la microbiota de nuestros pacientes, como los AINES, glucocorticoides y FARMES. Los pacientes con tratamiento de fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad y que responden al tratamiento, muestran restablecimiento en la composición de la microbiota (eubiosis) y como consecuencia impacto en la enfermedad (Bodkhe *et al.*, 2019). Por ejemplo, en pacientes con AR tratados con sulfasalazina, disminuyeron *E. coli*, *Bacteroides* y bacterias aerobias totales, con un aumento en *Bacillus* (Bodkhe *et al.*, 2019). A su vez, la microbiota es clave para metabolizar algunos fármacos creando una especie de “feedback” o retroalimentación. Por tanto, una microbiota en eubiosis facilitaría la absorción de los medicamentos y por consiguiente un mejor control de la enfermedad (Zaragoza-García *et al.*, 2020). Por su parte, los AINEs pueden afectar la composición y función de la microbiota intestinal y ésta, también pueden influir en la absorción y metabolismo de los AINEs (Maseda & Ricciotti, 2020).

En definitiva, existe la posibilidad de que algunos de nuestras pacientes tengan una microbiota en disbiosis como resultado de todos los factores asociados como la dieta; que algunos de nuestros pacientes (P1, P3, P5) ya habían modificado antes. Por esto, son necesarios más estudios para elucidar la composición y el impacto de las bacterias más representativas de la AR en nuestra población. Se debe considerar puntos importantes como, las diferentes etapas de la enfermedad (Wells *et al.*, 2020), población estudiada (Reyes-Castillo *et al.*, 2020), farmacoterapia (Zaragoza-García *et al.*, 2020) y dieta (Dourado *et al.*, 2020).

7. CONCLUSION

En conclusión, el trigo de la dieta pudiera influir en los síntomas de algunos pacientes con artritis reumatoide, pero no necesariamente a través de una respuesta inmune inflamatoria al gluten, ni como en enfermedad celiaca, tampoco debido a disbiosis. Los síntomas se podrían deber a hipersensibilidad focalizada en la mucosa intestinal con señalización al sistema nervioso, como en el síndrome de intestino irritable, que de hecho padecían la mitad de las pacientes estudiadas.

Las pacientes estudiadas, eran de larga evolución y con la artritis reumatoide controlada con fármacos, no presentaron anticuerpos asociados a enfermedad celiaca, pero sí comorbilidades en un caso dos enfermedades autoinmunes y la mitad padecían síndrome de intestino irritable. Además, su dieta en varios casos era ultraprocesada, en algunos casos muy alta en carnes, grasas y aceites. Sin embargo, su permeabilidad intestinal estaba bien preservada. En la microbiota fecal de cuatro de las pacientes, había abundancia excesiva de *Bacteroides spp* y nula presencia de *Prevotella copri*, en la mayoría de casos, se puede asociar a su dieta.

Solo en uno de los seis casos estudiados, la dieta de cuatro semanas sin trigo y su reintroducción posterior, provocaron disminución y aumento sustantivos de la actividad de la artritis reumatoide, respectivamente. En otros dos casos, sí hubo cambios en síntomas no articulares, con respuesta similar a la de intestino irritable. En el reto *ex vivo* con proteínas del gluten a células mononucleares de las pacientes, no hubo aumento de las citocinas proinflamatorias IL-6 e IFN- γ , el resultado podría estar afectado por los fármacos inmunosupresores.

9. REFERENCIAS

- Aggarwal A, Chandran S, Misra R. 2006. Physical, psychosocial and economic impact of rheumatoid arthritis: a pilot study of patients seen at a tertiary care referral centre. *Natl Med J India*.;19(4):187-191.
- Aguayo-Patrón SV, Castillo-Fimbres R, Calderón de la Barca AM. 2021. Feces homogenization before gDNA extraction improves the variability analysis of microbiota by qPCR. *Enferm Infecc Microbiol Clin* (Submitted 2021)
- Aguilar-Salido A. 2017. Permeabilidad intestinal, disbiosis y dieta asociadas a diabetes tipo 1. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora.
- Alani H, Henty JR, Thompson NL, Jury E, Ciurtin C. 2018. Systematic review and meta-analysis of the epidemiology of polyautoimmunity in Sjogren's syndrome (secondary Sjogren's syndrome) focusing on autoimmune rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol*.;47:141–154.
- Alpizar-Rodriguez D, Lesker TR, Gronow A, Gilbert B, Raemy E, Lamacchia C, et al. 2019. *Prevotella copri* in individuals at risk for rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 78(5):590-593.
- Asai S, Nagai K, Takahashi N, Watanabe T, Matsumoto T, Asai N, et al. 2019. Influence of methotrexate on gastrointestinal symptoms in patients with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis*. 22: 207– 213.
- Ayyappan P, Harms RZ, Seifert JA, Bemis EA, Feser ML, Deane KD, et al. Heightened levels of antimicrobial response factors in patients with rheumatoid arthritis. *Front Immunol*. 2020;20:11:427.
- Azzouzi H, Ichchou L. 2020. Seasonal and weather effects on rheumatoid arthritis: myth or reality? *Pain Res Manag* 2020:5763080.
- Balas-Nakash M, Rodríguez-Cano A, Muñoz-Manrique C, Vázquez-Peña P, Perichart-Perera O. 2010. Tres métodos para medir la adherencia a un programa de terapia médica y nutricia en mujeres embarazadas con diabetes y su asociación con el control glucémico. *Rev Invest Clin*. 62(3):235-243.
- Barberá A, Domínguez MDC. 2004. Características e inmunopatogénesis de la artritis reumatoide. Estado actual en el tratamiento. *Biotecnol Apl*. 21(4):189-201.
- Bashda H. 2018. Role of diet in influencing rheumatoid arthritis disease activity. *Open Rheumatol J*. 12:19-28.
- Bellan M, Sainaghi PP, Pirisi M. 2017. Role of Vitamin D in Rheumatoid Arthritis. *Adv Exp Med Biol*. 996:155-168.
- Berglin E, Dahlqvist SR. 2013. Comparison of the 1987 ACR and 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis in clinical practice: a prospective cohort study. *Scand J Rheumatol*. 42(5):362-8.

- Beri D, Malaviya AN, Shandilya R, Singh RR. 1988. Effect of dietary restrictions on disease activity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 47(1):69-72.
- Bielsa-Fernández, MV, Tamayo-de la Cuesta, JL, Lizárraga-López, J, Remes-Troche, JM, Carmona-Sánchez, R, Aldana-Ledesma, JM, et al. 2020. The Mexican consensus on the diagnosis, treatment, and prevention of NSAID-induced gastropathy and enteropathy. Consenso mexicano sobre diagnóstico, prevención y tratamiento de la gastropatía y enteropatía por antiinflamatorios no esteroideos. *Rev Gastroenterol Mex*, 85(2), 190–206
- Bjarnason I, Williams P, So A, Zanelli GD, Levi AJ, Gumpel JM, et al. 1984. Intestinal permeability and inflammation in rheumatoid arthritis: effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs. *well.* 2(8413):1171-1174.
- Bodkhe R, Balakrishnan B, Taneja V. 2019. The role of microbiome in rheumatoid arthritis treatment. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 11:1759720X19844632.
- Brakenhoff LK, van der Heijde DM, Hommes DW, Huizinga TW, Fidler HH. 2010. The joint-gut axis in inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis.* 4(3):257-68.
- Brown LE, Frits ML, Iannaccone CK, Weinblatt ME, Shadick NA, Liao KP. 2015. Clinical characteristics of RA patients with secondary SS and association with joint damage. *Rheumatology (Oxford).* 54:816–820
- Bruzzese V, Scolieri P, Pepe J. 2021. Efficacy of gluten-free diet in patients with rheumatoid arthritis. *Reumatismo.* 72(4):213-217.
- Bustamante M, Agustí-Perez M, Cedola F, Coras R, Narasimhan R, Golshan S, et al. 2020. Design of an anti-inflammatory diet (ITIS diet) for patients with Rheumatoid arthritis. *Contemporary Clinical Trials Communications.* 17. 100524.
- Cabrera-Chávez F, Rouzaud-Sández O, Sotelo-Cruz N, Calderón de la Barca AM. 2009. Bovine milk caseins and transglutaminase-treated cereal prolamins are differentially recognized by IgA of celiac disease patients according to their age. *J Agric Food Chem.* 13;57(9):3754-9.
- Calderón de la Barca AM, Castillo-Fimbres RS, Mejía-León ME, Quihui-Cota L, Ochoa-Leyva A, Aguayo-Patrón SV. 2020. Enteric parasitic infection disturbs bacterial structure in Mexican children with autoantibodies for type 1 diabetes and/or celiac disease. *Gut Pathog.* 2020;12:37.
- Calderón de la Barca AM, Sigala-Robles R, Mejía-León ME. 2018. Enfermedades relacionadas con el consumo de trigo: no sólo es la enfermedad celíaca, ni tampoco sólo el gluten. *Nutrición en Gastroenterología: aspectos clínicos y dietéticos.* AM Editores SA de CV, CLAVE Editorial. México. p.139-155.
- Castillo-Ortiz JD, Durán-Barragán S, Sánchez-Ortíz A, Ramos-Remus C. 2010. Anticuerpos anti-transglutaminasa, anti-gliadina y anti-gliadina ultra-purificada en pacientes con diagnóstico de artritis reumatoide del adulto. *Reumatol Clín.* 2011;7(1):27-29.
- Catassi C, Elli L, Bonaz B, Bouma G, Carroccio A, Castillejo G, et al. 2015. Diagnosis of Non-Celiac Gluten Sensitivity (NCGS): The Salerno Experts' Criteria. *Nutrients.* 7(6):4966-77.
- Chen R, Stahl EA, Kurreeman FA, Gregersen PK, Siminovitch KA, Worthington J, et al. Fine mapping the TAGAP risk locus in rheumatoid arthritis. *Genes Immun.*12(4):314-318.
- Choi J, Fenando A. 2021. Sulfasalazine. En *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls*

Publishing; 2021 Jan.

- Corominas H, Fíguls R, Riera M. 2008. Síndrome de Sjögren. *Reumatol Clín.* 4:22-27.
- Cox MA, Lewis KO, Cooper BT. 1999. Measurement of small intestinal permeability markers, lactulose, and mannitol in serum: results in celiac disease. *Dig Dis Sci.* 44(2):402-6.
- Cross M, Smith E, Hoy D, Carmona L, Wolfe F, Vos T, et al. 2014. The global burden of rheumatoid arthritis: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. *Ann Rheum Dis.* 73(7):1316-1322.
- Curtis JR, Yang S, Singh JA, Xie F, Chen L, Yun H, et al. 2018. Is Rheumatoid Arthritis a Cardiovascular Risk-Equivalent to Diabetes Mellitus? *Arthritis Care Res (Hoboken).* 70(11):1694-1699.
- Cutolo M, Nikiphorou E. 2018. Don't neglect nutrition in rheumatoid arthritis! *RMD Open.* 24;4(1):e000591.
- Danza Á, Graña D, Goñi M, Vargas A, Ruiz-Irastorza G. 2016. Hidroxicloroquina en el tratamiento de las enfermedades autoinmunes sistémicas. *Rev. méd. Chile.* 144(2):232-240.
- de Egea V, Campi, C. 2016. El papel del microbioma humano en las enfermedades autoinmunes. *Rev Parag Reumatol.* 2(2):76-80.
- De Filippis F, Pasolli E, Tett A, Tarallo S, Naccarati A, De Angelis M, et al. 2019. Distinct Genetic and Functional Traits of Human Intestinal *Prevotella copri* Strains Are Associated with Different Habitual Diets. *Cell Host Microbe.* 25(3):444-453.e3.
- Deane KD, Demoruelle MK, Kelmenson LB, Kuhn KA, Norris JM, Holers VM. 2017. Genetic and environmental risk factors for rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 31(1):3-18.
- Deehan EC, Walter J. 2016. The Fiber Gap and the Disappearing Gut Microbiome: Implications for Human Nutrition. *Trends Endocrinol Metab.* 27: 239-242.
- Demoruelle MK, Deane KD, Holers VM. 2014. When and where does inflammation begin in rheumatoid arthritis?. *Curr Opin Rheumatol.* 26(1):64-71.
- Di Liberto D, Mansueto P, D'Alcamo A, Pizzo M, Presti E, Geraci G, et al. 2016. Predominance of type 1 innate lymphoid cells in the rectal mucosa of patients with non-celiac wheat sensitivity: Reversal after a wheat-free diet. *Clin Transl Gastroenterol* 7(7): e178.
- Dourado E, Ferro M, Sousa Guerreiro C, Fonseca JE. 2020. Diet as a Modulator of Intestinal Microbiota in Rheumatoid Arthritis. *Nutrients.* 12(11):3504.
- Eyre S, Hinks A, Bowes J, Flynn E, Martin P, Wilson AG, et al. 2010. Overlapping genetic susceptibility variants between three autoimmune disorders: rheumatoid arthritis, type 1 diabetes and coeliac disease. *Arthritis Res Ther.* 12(5):R175.
- Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abdollahi M, Rahimi R. 2016. The Role of Visceral Hypersensitivity in Irritable Bowel Syndrome: Pharmacological Targets and Novel Treatments. *J Neurogastroenterol Motil.* 22(4):558-574.
- Fasano A, Sapone A, Zevallos FV, Schuppan D. 2015. Nonceliac gluten sensitivity. *Gastroenterology.*148(6):1195-1204.

- Franks AH, Harmsen HJ, Raangs GC, Jansen GJ, Schut F, Welling GW. Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent *in situ* hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. 1998. *Appl Environ Microbiol.* 64:3336-3345
- García-Sevillano L. 2014. Avances en artritis reumatoide. *An Real Acad Farm.* 80(1):126-150.
- Gasbarrini A, Corazza GR, Gasbarrini G, Montalto M, Di Stefano M, Basilisco G, et al. 2009. 1st Rome H2-Breath Testing Consensus Conference Working Group. Methodology and indications of H2-breath testing in gastrointestinal diseases: the Rome Consensus Conference. *Aliment Pharmacol Ther.* Mar 30;29 Suppl 1:1-49.
- Gibofsky A. 2014. Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis: A Synopsi. *Am J Manag Care.* 20(7):S128-35.
- Gioia C, Lucchino B, Tarsitano MG, Iannuccelli C, Di Franco M. 2020. Dietary Habits and Nutrition in Rheumatoid Arthritis: Can Diet Influence Disease Development and Clinical Manifestations? *Nutrients.* 12(5):1456.
- Gómez A. 2011. Nuevos criterios de clasificación de artritis reumatoide. *Reumatol Clín.* 6:33-37.
- Gremese E, Alivernini S, Tolusso B, Zeidler MP, Ferraccioli G. 2019. JAK inhibition by methotrexate (and csDMARDs) may explain clinical efficacy as monotherapy and combination therapy. *J Leukoc Biol.* 106(5):1063-1068. doi:10.1002/JLB.5RU0519-145R
- Guerreiro CS, Calado Â, Sousa J, Fonseca JE. 2018. Diet, microbiota, and gut permeability-the unknown triad in rheumatoid arthritis. *Front Med.* 14;5:349.
- Guillot E. 2012. Contenido de ácidos grasos trans en tejido adiposo subcutáneo y visceral como factor de riesgo cardiovascular y diabetes Mellitus. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Hermosillo, Sonora.
- Guo M, Wang H, Xu S, Zhuang Y, An J, Su C, et al. 2020. Alteration in gut microbiota is associated with dysregulation of cytokines and glucocorticoid therapy in systemic lupus erythematosus. *Gut Microbes.* 11(6):1758-1773.
- Gutierrez, XJR., Galvez-Rios S, Amieva-Balmori M, Sosa OR, Liceaga HAT, Gomez-Castaños PC, et al. 2016. Mo1638 Intolerance and Hypersensitivity During and After an Inulin (Fructan) Breath Test. A Study in Irritable Bowel Syndrome and Healthy Controls. *Gastroenterology*, 150(4), S738.
- Hafström I, Ringertz B, Spångberg A, von Zweigbergk L, Brannemark S, Nylander I, et al. 2001. A vegan diet free of gluten improves the signs and symptoms of rheumatoid arthritis: the effects on arthritis correlate with a reduction in antibodies to food antigens. *Rheumatology (Oxford).* 40(10):1175-9.
- Häger J, Bang H, Hagen M, Frech M, Träger P, Sokolova MV, et al. 2019. The Role of Dietary Fiber in Rheumatoid Arthritis Patients: A Feasibility Study. *Nutrients.* 11(10):2392.
- Haupt-Jorgensen M, Groule V, Reibel J, Buschard K, Pedersen AML. 2021. Gluten-free diet modulates inflammation in salivary glands and pancreatic islets. *Oral Dis.* Epub ahead of print.
- Hayes PA, Fraher MH, Quigley EM. 2014. Irritable bowel syndrome: the role of food in pathogenesis and management. *Gastroenterol Hepatol (N Y).* 10(3):164-174.

- He Z, Kong X, Shao T, Zhang Y, Wen C. 2019. Alterations of the Gut Microbiota Associated With Promoting Efficacy of Prednisone by Bromofuranone in MRL/lpr Mice. *Front Microbiol.* 10:978.
- Henderson CJ, Panush RS. 1999. Diets, dietary supplements, and nutritional therapies in rheumatic diseases. *Rheum Dis Clin North Am.* (4):937-68, ix.
- Hendriks J, de Jonge MJ, Fransen J, Kievit W, van Riel PL. 2016. Systematic review of patient-reported outcome measures (PROMs) for assessing disease activity in rheumatoid arthritis. *RMD Open.* 2(2):e000202.
- Horta-Baas G, Romero-Figueroa MDS, Montiel-Jarquín AJ, Pizano-Zárate ML, García-Mena J, Ramírez-Durán N. 2017. Intestinal dysbiosis and rheumatoid arthritis: a link between gut microbiota and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Immunol Res.* 2017:4835189.
- Huang EY, Inoue T, Leone VA, Dalal S, Touw K, Wang Y, et al. 2015. Using corticosteroids to reshape the gut microbiome: implications for inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 21(5):963-72.
- Hurtado-Torres GF, González-Baranda LL, Abud-Mendoza C. 2015. Caquexia reumatológica y otras alteraciones nutricionales en las enfermedades reumatológicas. *Reumatol Clín.* 11(5):316-321.
- Hvatum M, Kanerud L, Hällgren R, Brandtzaeg P. 2006. The gut-joint axis: cross reactive food antibodies in rheumatoid arthritis. *Gut.* 55(9):1240-7.
- Inamo J. 2019. Non-causal association of gut microbiome on the risk of rheumatoid arthritis: a Mendelian randomisation study. *Ann Rheum Dis.* 80(7):e103.
- Ishikawa LLW, Colavite PM, Fraga-Silva TFC, Mimura LAN, França TGD, Zorzella-Pezavento SFG, et al. 2017. Vitamin D Deficiency and Rheumatoid Arthritis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 52(3):373-388.
- Jadue A. Anticuerpos anti-péptido citrulinado cíclico en artritis reumatoide, artritis psoriática y otras enfermedades. 2007. *Rev Chil Reumatol.* 23(4):142-150.
- Junker Y, Zeissig S, Kim SJ, Barisani D, Wieser H, Leffler DA, et al. 2012. Wheat amylase trypsin inhibitors drive intestinal inflammation via activation of toll-like receptor 4. *J Exp Med.* ;209(13):2395-2408.
- Kadioglu A, Sheldon P. 1996. Adhesion of rheumatoid lymphocytes to mucosal endothelium: the gut revisited. *Br J Rheumatol.* 35(3):218-225.
- Katz P. 2017. Fatigue in Rheumatoid Arthritis. *Curr Rheumatol Rep.*19(5):25.
- Khandalavala BN, Nirmalraj MC. 2014. Rapid partial repigmentation of vitiligo in a young female adult with a gluten-free diet. *Case Rep Dermatol.* 6(3):283-7.
- Khanna S, Jaiswal KS, Gupta B. 2017. Managing rheumatoid arthritis with dietary interventions. *Front Nutr.* 4:52.
- Kishikawa T, Maeda Y, Nii T, Motooka D, Matsumoto Y, Matsushita M, et al. 2020. Metagenome-wide association study of gut microbiome revealed novel aetiology of rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Ann Rheum Dis.* 79(1):103-111.
- Koszarny A, Majdan M, Suszek D, Dryglewska M, Tabarkiewicz J. 2015. Autoantibodies against

- gliadin in rheumatoid arthritis and primary Sjögren's syndrome patients. *Wiad Lek.* 68(3):242-247.
- Krakauer T. 2015. Sulfasalazine Attenuates Staphylococcal Enterotoxin B-Induced Immune Responses. *Toxins.* 7(2):553-559.
- Kristjansson G, Serra J, Löf L, Venge P, Hällgren R. 2005. Kinetics of mucosal granulocyte activation after gluten challenge in coeliac disease. *Scand J Gastroenterol.* 40(6):662-669.
- Kulich KR, Madisch A, Pacini F, Piqué JM, Regula J, van Rensburg CJ, et al. 2008. Reliability and validity of the Gastrointestinal Symptom Rating Scale (GSRS) and Quality of Life in Reflux and Dyspepsia (QOLRAD) questionnaire in dyspepsia: A six-country study. *Health Qual Life Outcomes.* 31(6):12.
- Leeb BF, Haindl PM, Brezinschek HP, Nothnagl T, Rintelen B. 2014. RADAI-5 to monitor rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 32(5 Suppl 85) :S-55-8.
- León-Barúa R, Torres-Zevallos H, López-Aliaga CG, Ferrara GP. 2014. Permeabilidad intestinal mediante la prueba de manitol y lactulosa por cromatografía ¿el incremento de la permeabilidad intestinal es un posible factor desencadenante de un grupo de entidades alérgicas, in amatorias y autoinmunes? *Interciencia.* 5(1), 47-54.
- Lerner A, Matthias T. 2015. Rheumatoid arthritis-celiac disease relationship: joints get that gut feeling. *Autoimmun Rev.*14(11):1038-47.
- Lerner A, Neidhöfer S, Matthias T. 2016. "Beyond the joint: What's happening in the gut." *Int. J. Celiac Dis.* 4:127-129.
- Lieberman AC, Budziński ML, Sokn C, Gobbi RP, Steininger A, Arzt E. 2018. Regulatory and Mechanistic Actions of Glucocorticoids on T and Inflammatory Cells. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:235.
- Lidén M, Kristjánsson G, Valtýsdóttir S, Hällgren R. 2007. Gluten sensitivity in patients with primary Sjögren's syndrome. *Scand J Gastroenterol.* 42(8):962-7.
- Lin YJ, Anzaghe M, Schülke S. 2020. Update on the Pathomechanism, Diagnosis, and Treatment Options for Rheumatoid Arthritis. *Cells.* 9(4):880.
- Maeda Y, Kurakawa T, Umemoto E, Motooka D, Ito Y, Gotoh K, et al. 2016. Dysbiosis Contributes to Arthritis Development via Activation of Autoreactive T Cells in the Intestine. *Arthritis Rheumatol.* 68(11):2646-2661.
- Manz W, Amann R, Ludwig W, Vancanneyt M, Schleifer KH. Application of a suite of 16S rRNA-specific oligonucleotide probes designed to investigate bacteria of the phylum cytophaga-flavobacter-bacteroides in the natural environment. 1996. *Microbiology.* 142:1097-1106.
- Martínez EO, Ramírez DFH, Núñez-Álvarez CA, Cabiedes J. 2011. Proteínas citrulinadas en artritis reumatoide. *Reumatología clínica.* 7(1):68-71.
- Maseda D & Ricciotti E. 2020 NSAID–Gut Microbiota Interactions. *Front. Pharmacol.* 11:1153.
- May E, Märker-Hermann E, Wittig BM, Zeitz M, Meyer zum Büschenfelde KH, Duchmann R. 2000. Identical T-cell expansions in the colon mucosa and the synovium of a patient with enterogenic spondyloarthropathy. *Gastroenterology.* 119(6):1745-55.
- Mejía-León ME, López-Domínguez L, Aguayo-Patrón SV, Caire-Juvera G, Calderón de la Barca

- AM. 2018. Dietary Changes and Gut Dysbiosis in Children With Type 1 Diabetes. *J Am Coll Nutr.* 37(6):501-507.
- Monteagudo-Sáez I, Fernández G, Carreño-Pérez L. 2002. Leflunomida, un fármaco inmunomodulador para diversas enfermedades. *Revista Española de Reumatología Suplementos*, 1(1), 72-76.
- Musa MA, Kabir M, Hossain MI, Ahmed E, Siddique A, Rashid H, et al. 2019. Measurement of intestinal permeability using lactulose and mannitol with conventional five hours and shortened two hours urine collection by two different methods: HPAE-PAD and LC-MSMS. *PLoS One.* 14(8):e0220397.
- Myasoedova E, Talley NJ, Manek NJ, Crowson CS. 2011. Prevalence and risk factors of gastrointestinal disorders in patients with rheumatoid arthritis: results from a population-based survey in olmsted county, Minnesota. *Gastroenterol Res Pract.* 2011:745829.
- Negrei C, Bojinca V, Balanescu A, Bojinca M, Baconi D, Spandidos DA, et al. 2016. Management of rheumatoid arthritis: Impact and risks of various therapeutic approaches. *Exp Ther Med.* 11(4):1177-1183.
- Ortiz AM, Laffón A, González-Álvaro I. 2001. Mecanismos de acción de fármacos modificadores de la evolución de la artritis reumatoide. *Revista Española de Reumatología*, 28(10), 420-427.
- Panacer K, Whorwell PJ. 2019. Dietary Lectin exclusion: The next big food trend?. *World J Gastroenterol.* 25(24):2973-2976.
- Paolino S, Pacini G, Patanè M, Alessandri E, Cattelan F, Goegan F, et al. 2019. Interactions between microbiota, diet/nutrients and immune/inflammatory response in rheumatic diseases: focus on rheumatoid arthritis. *Reumatologia.*57(3):151-157.
- Pianta A, Arvikar SL, Strle K, Drouin EE, Wang Q, Costello CE, et al. 2017. Two rheumatoid arthritis-specific autoantigens correlate microbial immunity with autoimmune responses in joints. *J Clin Invest.* 127(8):2946-2956.
- Raslan HM, Attia HR, Hamed Ibrahim M, Mahmoud Hassan E, Salama II, Ismail S, et al. 2020. Association of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor isotypes with HLA-DRB1 shared epitope alleles in Egyptian rheumatoid arthritis patients. *Int J Rheum Dis.* [Epub ahead of print]
- Reig-Otero Y, Mañes J, Juan-García C, Manyes, L. 2018. Análisis de los inhibidores de las α -amilasa y la tripsina contenidos en el trigo y otros cereales: potenciales promotores de la inflamación intestinal. *Rev Toxicol.* 35:45-52.
- Remes-Troche JM, Uscanga-Domínguez LF, Aceves-Tavares RG, Calderón de la Barca AM, Carmona-Sánchez RI, Cerda-Contreras E, et al. 2018. Guía clínica para diagnóstico y tratamiento de la enfermedad celíaca en México. *Rev de Gastroenterol Mex.* 83(4):434-450.
- Reyes-Castillo Z, Valdés-Miramontes E, Llamas-Covarrubias M, Muñoz-Valle JF. 2020. Troublesome friends within us: the role of gut microbiota on rheumatoid arthritis etiopathogenesis and its clinical and therapeutic relevance. *Clin Exp Med.* 21(1):1-13.
- Rodríguez GR, Zazzetti F, da Representação SR, Lencina MV, Barreira JC, Álvarez KE. 2014. Frecuencia de anticuerpos para diagnóstico de enfermedad celíaca en pacientes con

enfermedades del tejido conectivo y artropatías inflamatorias. Rev Med Chile. 142(12):1510-1516.

- Rodríguez-Elías AK, Maldonado-Murillo K, López-Mendoza LF, Bello, J. 2016. Genética genómica en artritis reumatoide: una actualización. Gac Med Mex. 152(2):218-227.
- Roth EB, Stenberg P, Book C, Sjöberg K. 2006. Antibodies against transglutaminases, peptidylarginine deiminase and citrulline in rheumatoid arthritis--new pathways to epitope spreading. Clin Exp Rheumatol. 24(1):12-18.
- Ruiz-Esquide V, Sanmartí R. 2012. Tabaco y otros factores ambientales en la artritis reumatoide. Reumatol Clín. 8(6):342-350.
- Sakkas LI, Bogdanos DP, Katsiari C, Platsoucas CD. 2014. Anti-citrullinated peptides as autoantigens in rheumatoid arthritis-relevance to treatment. Autoimmun Rev. 13(11):1114-1120.
- Sánchez-Ramón S, López-Longo FJ, Carreno L. 2011. Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. Reumatol Clín. (6):20-24.
- Sansón-Riofrío LS, González-Huítón A, Turrent-Carriles A, Schmulson M. 2017. Síndrome de intestino irritable y autoinmunidad. Neuro Gastro Latam Rev. 1, 128-143.
- Sarzi-Puttini P, Salaffi F, Di Franco M, Bazzichi L, Cassisi G, Casale R, et al. 2014. Pain in rheumatoid arthritis: a critical review. Reumatismo. 66(1):18-7.
- Scher JU, Szczesnak A, Longman RS, Segata N, Ubeda C, Bielski C, et al. 2013. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis. Elife. 2:e01202.
- Schorpion A, Kolasinski SL. 2017. Can Probiotic Supplements Improve Outcomes in Rheumatoid Arthritis? Curr Rheumatol Rep. 2;19(11):73.
- Sepúlveda-Delgado J, Rizo-Pinto A, Granados-Arriola J, Mena-Vela BA, Cetina-Díaz JH, García-Silva R, et al. 2020. Role of HLA-DRB1*04 in the susceptibility and HLA-DRB1*08 in the protection for development of rheumatoid arthritis in a population of Southern Mexico: brief report. Clin Rheumatol. [Epub ahead of print]
- Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein GS, et al. 2018. Rheumatoid arthritis. Nat Rev Dis Primers.;4:18001.
- Sollid LM, Jabri B. 2005. Is celiac disease an autoimmune disorder?. Curr Opin Immunol. 17(6):595-600.
- Spadaro A, Sorgi ML, Scrivo R, Picarelli A, Tola MD, Sabbatella L, et al. 2002. Anti-tissue transglutaminase antibodies in inflammatory and degenerative arthropathies. Reumatismo. 54(4):344-50.
- Stamp LK, James MJ, Cleland LG. 2005. Diet and rheumatoid arthritis: a review of the literature. Semin Arthritis Rheum. 35(2):77-94.
- Sun T & Ni J. 2020. Correspondence on '*Prevotella copri* in individuals at risk for rheumatoid arthritis'. Ann Rheum Dis. annrheumdis-2020-219347. Epub ahead of print.
- Sun Y, Chen Q, Lin P, Xu R, He D, Ji W, et al. 2019. Characteristics of Gut Microbiota in Patients With Rheumatoid Arthritis in Shanghai, China. Front Cell Infect Microbiol. 9:369.

- Tani K, Okura Y, Kawaminami S, Kawahito K, Kondo K, Takahashi R, et al. 2020. Strict Gluten-Restricted Diet Reduces Disease Activity of Rheumatoid Arthritis with Low Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibodies. *J Clin Trials*. 10:441.
- Tanwar VS, Singh H, Saini A, Sukhija G, Arora S, Kalra A. 2019. Rheumatoid Arthritis Disease Activity Index-5: an easy and effective way of monitoring patients with rheumatoid arthritis. *Egypt Rheumatol Rehabil* 46, 269–277.
- Tedeschi SK, Costenbader KH. 2016. Is There a Role for Diet in the Therapy of Rheumatoid Arthritis? *Curr Rheumatol Rep*. 18(5):23.
- Tedeschi SK, Frits M, Cui J, Zhang ZZ, Mahmoud T, Iannaccone C, et al. 2017. Diet and rheumatoid arthritis symptoms: survey results from a rheumatoid arthritis registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 69(12):1920-1925.
- Tett A, Huang KD, Asnicar F, Fehlner-Peach H, Pasolli E, Karcher N, et al. 2019. The *Prevotella copri* Complex Comprises Four Distinct Clades Underrepresented in Westernized Populations. *Cell Host Microbe*. 26(5):666-679.e7.
- Tett A, Pasolli E, Masetti G, Ercolini D, Segata N. *Prevotella* diversity, niches and interactions with the human host. 2021. *Nature reviews. Microbiology*. 19(9):585-599.
- Torres V, Torres AM, Hernández MV, Amaro R. 1998. Inmunopatogenia de la artritis reumatoidea: Conceptos actuales. *Rev Cubana Med Gen Integr*. (5): 429-433.
- Vaks K, Sjöström R. 2015. Rheumatoid arthritis patients' experience of climate care. *J Exerc Rehabil*. 11(6):337-344.
- van der Woude D, van der Helm-van Mil AHM. 2018. Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 32(2):174-187.
- Verbrugge P, Van Aken O, Hållenius F, Nilsson A. 2021. Development of a real-time quantitative PCR method for detection and quantification of *Prevotella copri*. *BMC Microbiol*. 11;21(1):23.
- Verma R, Kumar Verma A, Ahuja V, Paul J. 2010. Real-time analysis of mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease in India. *J Clin Microbiol*. 48(11):4279-82
- Volta U, De Giorgio R, Caio G, Uhde M, Manfredini R, Alaedini A. 2019. Nonceliac Wheat Sensitivity: An Immune-Mediated Condition with Systemic Manifestations. *Gastroenterol Clin North Am*. 48(1):165-182.
- Walter J, Tannock GW, Tilsala-Timisjarvi A, Rodtong S, Loach DM, Munro K, et al. 2000. Detection and identification of gastrointestinal *Lactobacillus* species by using denaturing gradient gel electrophoresis and species-specific PCR primers. *Appl Environ Microbiol*. 66(1):297-303.
- Warjri SB, Ete T, Beyong T, Barman B, Lynrah KG, Nobin H, et al. 2015. Coeliac disease with rheumatoid arthritis: An unusual association. *Gastroenterol. Res*. 8(1):167-168.
- Wells P, Adebayo A, Bowyer R, Freidin M, Finckh A, Strowig T, et al. 2020. Associations between gut microbiota and genetic risk for rheumatoid arthritis in the absence of disease: a cross-sectional study. *The Lancet Rheumatology*, 2(7), pp.e418-e427.
- Yang Y, Deshpande P, Krishna K, Ranganathan V, Jayaraman V, Wang T, et al. 2019. Overlap of

Characteristic Serological Antibodies in Rheumatoid Arthritis and Wheat-Related Disorders. *Dis Markers*. 2019:4089178.

Zaiss MM, Joyce Wu HJ, Mauro D, Schett G, Ciccia F. 2021. The gut-joint axis in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 17(4):224-237.

Zaragoza-García O, Castro-Alarcón N, Pérez-Rubio G, Guzmán-Guzmán IP. 2020. DMARDs-Gut Microbiota Feedback: Implications in the Response to Therapy. *Biomolecules*. 10(11):1479.

Zavala-Cerna MG, Salazar-Páramo M, Nava A. 2009. Avances sobre la fisiopatogenia de la artritis reumatoide, ¿Tiempo para una nueva teoría?. *Archivos de Medicina*. 5(2).

Zhernakova A, Stahl EA, Trynka G, Raychaudhuri S, Festen EA, Franke L, et al. 2011. Meta-analysis of genome-wide association studies in celiac disease and rheumatoid arthritis identifies fourteen non-HLA shared loci. *PLoS Genet*. 7(2):e1002004.

Zylberberg HM, Lebowhl B, Green PHR. 2018. Celiac Disease-Musculoskeletal Manifestations and Mechanisms in Children to Adults. *Curr Osteoporos Rep*. 16(6):754-762.