

# Peptidil Arginina Deiminasa de *P. gingivalis* recombinante, una herramienta para evaluar los anticuerpos anti-PPAD de pacientes con artritis reumatoidea

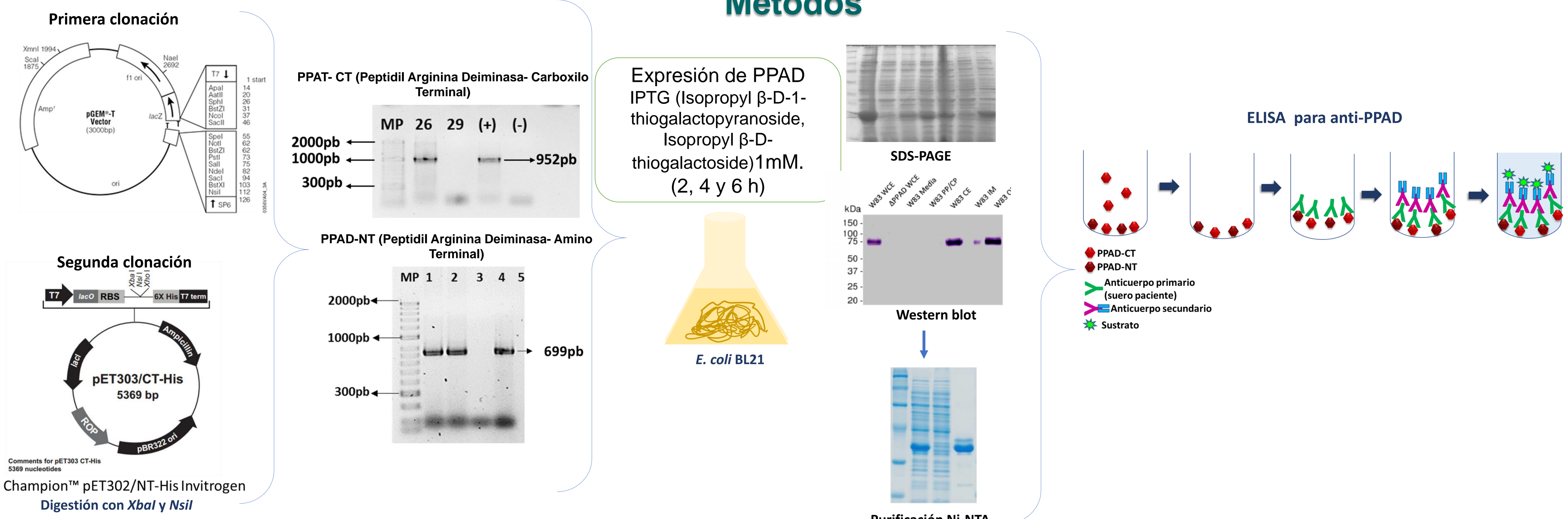
Diana Marcela Castillo<sup>1</sup>, Yineth Neuta<sup>1</sup>, Yormaris Castillo<sup>1</sup>, Juan-Manuel Bello<sup>2</sup>, Cesar Pacheco-Tena<sup>3</sup>, Gloria Inés Lafaurie<sup>1</sup>, Consuelo Romero-Sánchez<sup>2,4</sup>, Jaime E Castellanos<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Unidad de Investigación Básica Oral-UIBO, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque. <sup>2</sup> Servicio de Reumatología e Inmunología. Hospital Militar Central. <sup>3</sup> Instituto de Biomedicina de Chihuahua. <sup>4</sup> Grupo de Inmunología Celular y Molecular/INMUBO, Universidad El Bosque. <sup>5</sup> Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia.  
castillodiana@unbosque.edu.co

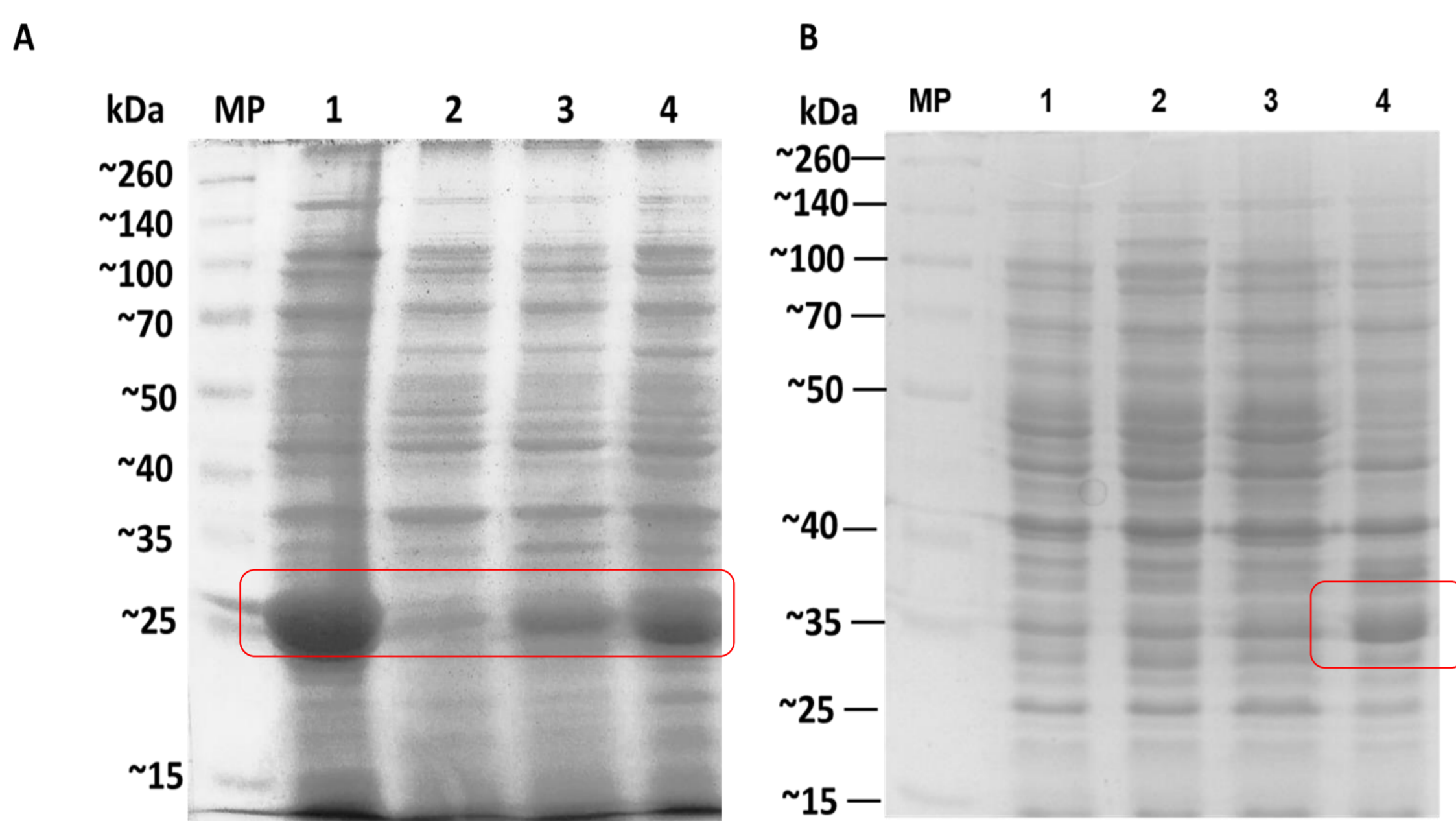
## Objetivo

La enzima Peptidil Arginina Deiminasa producida por *P. gingivalis* (PPAD) cataliza la conversión de arginina en citrulina en proteínas bacterianas y humanas; favoreciendo cambios en su plegamiento y la aparición de neoepitopes. Se ha encontrado relación entre la presencia de anticuerpos anti-PPAD y un aumento en la actividad de la artritis reumatoide (AR), por lo que este trabajo se propuso producir la PPAD recombinante para la titulación de anticuerpos séricos en pacientes con AR mediante ELISA.

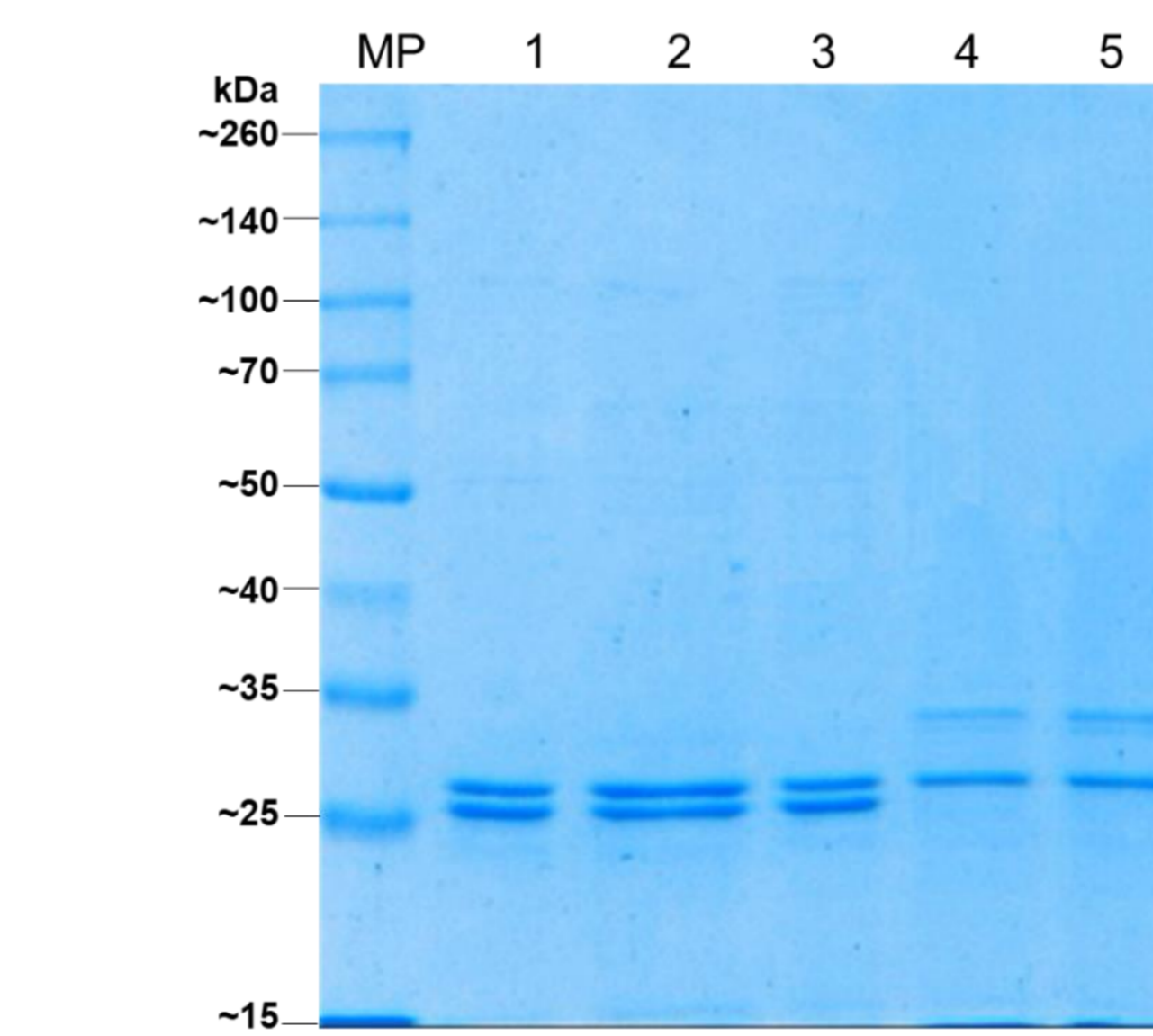
## Métodos



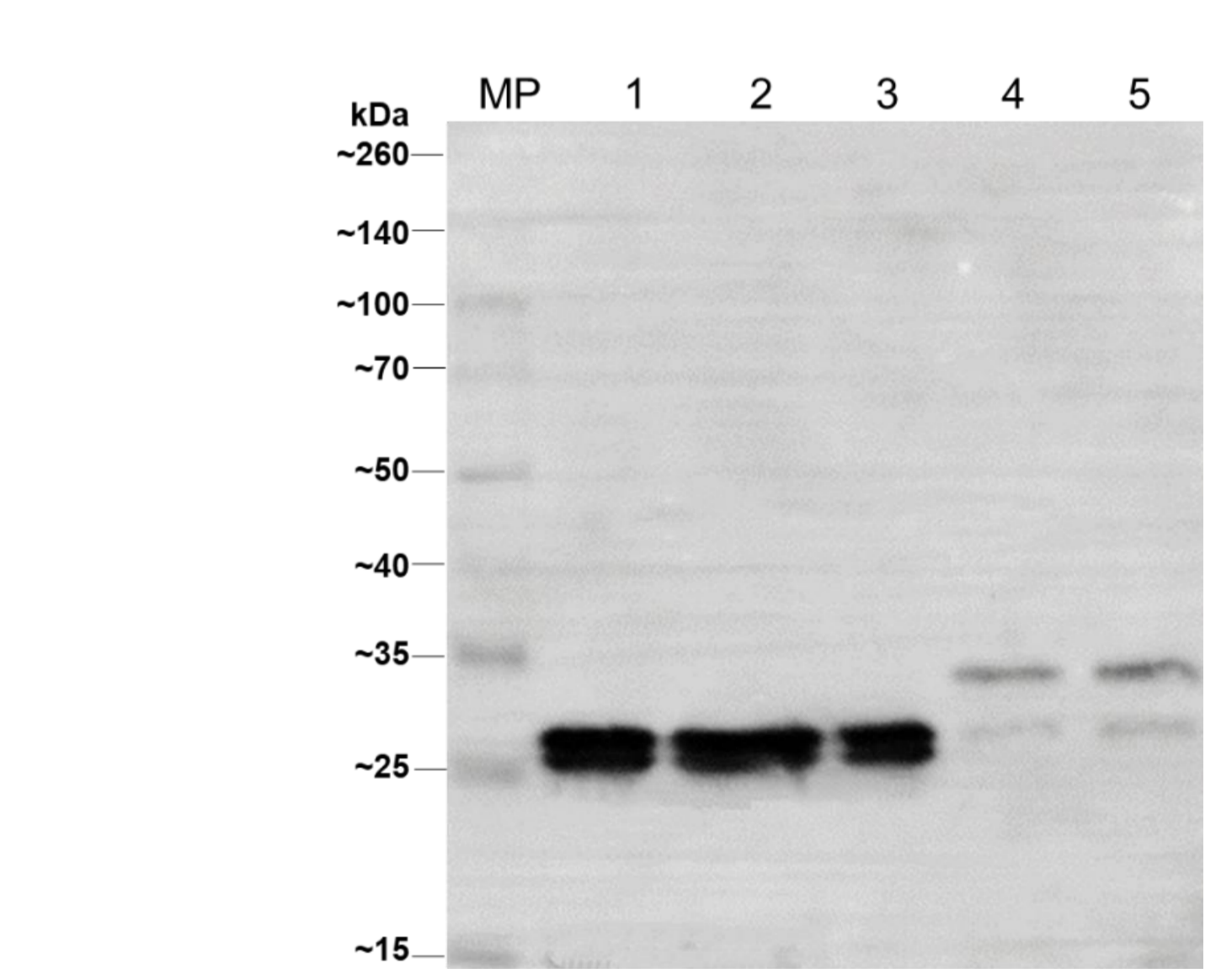
## Resultados



**Figura 1.** SDS-PAGE (tinción con azul de Coomassie) de la inducción de PPAD-NT y PPAD-CT en pellets de *E. coli* BL21 tras la inducción con IPTG 1mM. A. MP: Marcador de peso molecular, línea 1: dos horas de inducción, línea 2: dos horas sin inducción 3: cuatro horas de inducción, línea 4: cuatro horas sin inducción. B. MP: Marcado de peso molecular, 1: dos horas sin inducción, 2: dos horas con inducción, 3: cuatro horas sin inducción, 4: cuatro horas de inducción.



**Figura 2.** Purificación de PPAD-NT y PPAD-CT mediante resina Ni-Nta. MP: Marcador de peso molecular. Líneas 1, 2 y 3: eluidos de PPAD-NT; líneas 4 y 5: eluidos de PPAD-CT. Tinción con azul de Coomassie



**Figura 3.** Western blotting para PPAD-NT y PPAD-CT. MP: Marcador de peso molecular. 1: elución purificado PPAD-NT; 2: elución purificado PPAD-NT; 3: elución purificado PPAD-NT; 4: elución purificado PPAD-CT; 5: elución purificado PPAD-CT.

**Tabla 1.** Mediana y rango intercuartil de las variables edad y condición clínica periodontal.

Anti-PPAD	Edad	Numero de dientes	Placa	Rojo	Sangrado	Bolsas
Mediana	61	15,5	0,63	0,41	0,46	4,05
(RIQ)	(55-67)	(14-22)	(0,36-0,77)	(0,15-0,7)	(0,3-0,69)	(4-4,1)

**Tabla 2.** Asociación entre la presencia de anti-PPAD y anti-CCP

		Anti CCP		
		<20	20-39	40-50
Anti-PPAD	Negativo	0(0)	3(75)	1(25%)
	Positivo	2(33,3)	4(66,6)	0(0)

\*p<0.05 Chi<sup>2</sup>/Fisher

**Tabla 3.** Asociación entre la presencia de anti-PPAD y DAS28.

		DAS28	
		Negativo	Positivo
Anti-PPAD	Negativo	2(50)	2(50)
	Positivo	4(66,6)	2(33,3)

\*p<0.05 Chi<sup>2</sup>/Fisher

**Tabla 4.** Asociación entre la presencia de anti-PPAD y articulaciones inflamadas.

		Articulaciones inflamadas	
		Negativo	Positivo
Anti-PPAD	Negativo	2(50)	2(50)
	Positivo	6(100)**	0(0)

\*p<0.05 Chi<sup>2</sup>/Fisher; \*\* Tendencia  
\*\* p=0,053

**Tabla 5.** Asociación entre la presencia de anti-PPAD y SDAI.

		SDAI		
		<3,3	3,3-11	>11
Anti-PPAD	Negativo	1(25)	3(75)	0(0%)
	Positivo	0(0%)	2(33,3)	4(66,6)**

\*p<0.05 Chi<sup>2</sup>/Fisher; \*\* Tendencia  
\*\* p=0,082

**Tabla 6.** Asociación entre la presencia de anti-PPAD y las variables periodontales.

Anti-PAD	Placa			Rojo			Sangrado		
	0-30	30-50	>50	0-30	30-50	>50	0-30	30-50	>50
Negativo	1(25)	0(0)	3(75)	2(33,3)	0(0)	2(50)	1(25)	1(25)	2(50)
Positivo	2(33,3)	1(16,6)	3(50)	2(33,3)	1(16,6)	3(50)	3(50)	1(16,6)	2(33,3)

\*p<0.05 Chi<sup>2</sup>/Fisher

## Conclusiones

Se produjeron y purificaron eficientemente fragmentos recombinantes de PPAD, los cuales demostraron su utilidad por método inmunoenzimático para evaluar anticuerpos anti-PPAD en pacientes con AR y enfermedad periodontal.