



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUÍMICAS  
CARRERA DE BIOQUÍMICA  
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO  
DE DIAGNOSTICO E INVESTIGACIÓN EN SALUD (SELADIS)



**PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI - C1q  
Y CUANTIFICACIÓN DE LA FRACCIÓN C1q PARA EL  
APOYO AL DIAGNOSTICO Y SEGUIMIENTO DE LUPUS  
ERITEMATOSO SISTEMICO Y ARTRITIS REUMATOIDE**

ELABORADO POR:

Univ. CLAUDIA CALLE CHOQUE

(TESINA PARA OPTAR EL GRADO DE LICENCIATURA EN BIOQUIMICA)

LA PAZ – BOLIVIA

2010

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUÍMICAS  
CARRERA DE BIOQUÍMICA  
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO  
DE DIAGNOSTICO E INVESTIGACIÓN EN SALUD (SELADIS)

**PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI - C1q Y  
CUANTIFICACIÓN DE LA FRACCIÓN C1q PARA EL  
APOYO AL DIAGNOSTICO Y SEGUIMIENTO DE  
LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO Y ARTRITIS  
REUMATOIDE**

**ELABORADO POR:**

**Univ. CLAUDIA CALLE CHOQUE**

**ASESORA:**

**Dra. JACQUELINE CALLA DE MAGARIÑOS**

**(TESINA PARA OPTAR EL GRADO DE LICENCIATURA EN BIOQUIMICA)**

**LA PAZ – BOLIVIA**

**2010**

*Dedicado a:*

*Elíel, Adriana y Vladimir*

*Perdón por todo.....*

# Gracias

*Gracias a mi familia*

*Sin su amor, cariño y apoyo mi vida estaría vacía,  
Gracias a ellos que su supieron guiarme en el camino correcto.  
Me impulsaron a seguir siempre adelante, dejando de lado los malos momentos  
para que no me rinda y luche hasta lograr la meta trazada.*

*Gracias a la doctora Jacqueline Calla*

*Que fue la fuente de inspiración para la realización de este trabajo.  
Gracias a su confianza y paciencia que pudo guiarme en todo momento durante  
la elaboración del mismo.*

*Dra. con usted entendí la siguiente frase:*

***“El conocimiento es una antorcha para mostrar a los otros el camino en la  
oscuridad. La sabiduría, es convertirte tú mismo en la antorcha”.***

*Gracias al doctor Fernando Sosa*

*Por haberme proporcionado las muestras que utilice en la investigación.  
Con su apoyo y dedicación fortaleció mis ganas de seguir adelante y los consejos  
que me da como amigo los guardaré en mi corazón.*

*Gracias a Teddy, Viviana y Elizabeth que me colaboraron desinteresadamente  
cuando se los pedí y me colaboraron con su conocimiento.*

*Gracias al instituto SELADIS por acogerme y darme la oportunidad de  
concretar uno de mis sueños, buscaba un pedacito de conocimiento pero, halle el  
doble de lo que esperaba.*

*Gracias a todos mis compañeros que siempre tenían una palabra de aliento para  
que no me sienta triste o sola, gracias por todo Vladi y no dejarme rendir.*

## TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS  
LISTA DE TABLAS  
LISTA DE ANEXOS  
LISTA DE ABREVIATURAS  
GLOSARIO

	PÁGINA
I. RESÚMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. MARCO TEÓRICO.....	4
A. TOLERANCIA INMUNITARIA.....	4
B. ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR INMUNOCOMPLEJOS.....	5
C. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.....	6
1. Patogénesis del Lupus Eritematoso Sistémico.....	8
2. Manifestaciones clínicas.....	9
3. Diagnóstico.....	12
4. Tratamiento.....	13
D. NEFRITIS LÚPICA.....	14
E. ARTRITIS REUMATOIDE.....	14
1. Patogénesis de la artritis reumatoide.....	17
a. Células y moléculas involucradas en la patogénesis de la artritis reumatoide .....	20
2. Manifestaciones clínicas.....	21
3. Diagnóstico.....	22
4. Tratamiento.....	23
F. SISTEMA DEL COMPLEMENTO.....	24
1. Mecanismo de activación del complemento.....	25
2. Vía alternativa.....	26
a. Estado de reposo.....	26
b. Estado de amplificación.....	26
3. Vía clásica.....	27
a. Activación del factor C1.....	31
4. Vía de las lectinas.....	32
5. Complejo de ataque a la membrana (MAC).....	33
6. Codificación genética de las fracciones del complemento	35
IV. ANTECEDENTES.....	35

V.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	36
VI.	JUSTIFICACIÓN.....	37
VII.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	39
	A. TIPO DE DISEÑO.....	39
	B. TIPO DE ESTUDIO.....	39
	C. POBLACIÓN EN ESTUDIO.....	39
	1. Criterios de inclusión.....	39
	2. Criterios de exclusión.....	40
	D. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	40
	E. MODELO TEÓRICO.....	41
VIII.	HIPÓTESIS.....	41
IX.	OBJETIVOS.....	42
	A. OBJETIVO GENERAL.....	42
	B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
X.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	43
	A. MATERIAL.....	43
	1. Insumos.....	43
	B. Métodos.....	43
	1. Técnicas de ensayo inmunoabsorbente de unión a una enzima (ELISA).....	43
	2. Técnica de Inmunodifusión radial (IDR).....	46
XI.	RESULTADOS.....	47
XII.	DISCUSIÓN.....	57
XIII.	CONCLUSIONES.....	63
XIV.	RECOMENDACIONES.....	64
XV.	BIBLIOGRAFÍA	
XVI.	ANEXOS	

## LISTA DE FIGURAS

	<b>PÁGINA</b>
<b>FIGURA Nº 1.</b> Formación de complejos inmunitarios.....	6
<b>FIGURA Nº 2.</b> Zonas afectadas por Lupus Eritematoso Sistémico.....	7
<b>FIGURA Nº 3.</b> Erupciones cutáneas leves y graves.....	10
<b>FIGURA Nº 4.</b> Articulaciones afectadas por Artritis reumatoide.....	15
<b>FIGURA Nº 5.</b> Cadena de señales que se dan en la Artritis Reumatoide...	18
<b>FIGURA Nº 6.</b> Patogénesis de la artritis reumatoide.....	19
<b>FIGURA Nº 7.</b> Manifestaciones clínicas en las articulaciones por AR.....	22
<b>FIGURA Nº 8.</b> Activación de la Vía alternativa.....	27
<b>FIGURA Nº 9.</b> Molécula de C1q.....	28
<b>FIGURA Nº 10.</b> Unión de C1q al Fc de IgG unida a la membrana celular...	29
<b>FIGURA Nº 11.</b> Activación de la Vía Clásica del complemento.....	31
<b>FIGURA Nº 12.</b> Proteína fijadora de manosa.....	32
<b>FIGURA Nº 13.</b> Activación de la vía de las Lectinas.....	33
<b>FIGURA Nº 14.</b> Complejo de ataque a la membrana, lisis celular.....	34
<b>FIGURA Nº 15.</b> Lector de ELISA y microplacas de poliestireno de 96 pocillos.....	46
<b>FIGURA Nº 16.</b> Placa de Inmunodifusión Radial.....	47
<b>FIGURA Nº 17.</b> Titulación del Anticuerpo anti-C1q para la técnica ELISA	48
<b>FIGURA Nº 18.</b> Titulación de la Técnica ELISA para el Anticuerpo Anti – C1q dilución de la muestra 1/10.....	49
<b>FIGURA Nº 19.</b> Titulación de la Técnica ELISA para el Anticuerpo Anti – C1q dilución de la muestra 1/50.....	49
<b>FIGURA Nº 20.</b> Titulación de la Técnica ELISA para el Anticuerpo Anti – C1q. dilución de la muestra 1/100.....	50
<b>FIGURA Nº 21.</b> Titulación de la Técnica ELISA para el Anticuerpo Anti – C1q. dilución de la muestra 1/500.....	50
<b>FIGURA Nº 22.</b> Estandarización de la Técnica ELISA para el anticuerpo anti – C1q en pacientes con diagnostico de LES y AR.....	51

<b>FIGURA Nº 23.</b> Evaluación de Ac anti-C1q en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) y Artritis Reumatoide (AR)...	52
<b>FIGURA Nº 24.</b> Curva de calibración para determinación de valores de C1q en pacientes con diagnóstico de LES y AR.....	54
<b>FIGURA Nº 25.</b> Obtención del rango de referencia para valores de C1q....	55
<b>FIGURA Nº 26.</b> Valores de C1q en pacientes con diagnóstico de lupus Eritematoso sistémico y artritis reumatoide.....	56
<b>FIGURA Nº 27.</b> Correlación entre la presencia del Anticuerpos Anti – C1q y la fracción C1q en pacientes con diagnóstico de LES...	57
<b>FIGURA Nº 28.</b> Correlación entre la presencia de Anticuerpos Anti – C1q vs C1q en pacientes con diagnóstico de AR.....	58

#### **LISTA DE TABLAS**

	<b>PÁGINA</b>
<b>TABLA Nº 1</b> Criterios para el Diagnóstico de la Artritis Reumatoide.....	16
<b>TABLA Nº 2</b> Funciones básicas del complemento.....	25
<b>TABLA Nº 3</b> Proteínas de la vía clásica del complemento.....	30
<b>TABLA Nº 4</b> Pasos generales de la técnica ELISA.....	45
<b>TABLA Nº 5</b> Concentraciones ideales, obtenidas en la titulación de la técnica ELISA.....	51
<b>TABLA Nº 6</b> Determinación de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la Técnica ELISA C1q en los dos grupos en estudio (LES y AR).....	53
<b>TABLA Nº 7</b> Determinación de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la técnica ELISA C1q en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico.....	53
<b>TABLA Nº 8</b> Determinación de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la técnica ELISA C1q en pacientes con Artritis reumatoide...	53



## **LISTA DE ANEXOS**

### **ANEXO N°1**

Pasos generales de la técnica ELISA

### **ANEXO N°2**

Placas de poliestireno de 96 pocillos y lector de ELISA

### **ANEXO N°3**

Protocolo de la técnica ELISA-C1q

### **ANEXO N°4**

**Tabla N°1** Punto de corte para determinar la presencia de Ac anti C1q mediante de la técnica de ELISA, determinado en una población de 49 muestras de pacientes con diagnóstico de LES y AR.

**Tabla N°2** Rangos de referencia para la fracción C1q determinados en una población de 36 muestras de pacientes con diagnóstico de LES y AR.

**Tabla N°3.** Calculo para Sensibilidad, Especificidad y Valores predictivos de la técnica ELISA.

### **ANEXO N° 5**

Carta de consentimiento informado.

## LISTA DE ABREVIATURAS

**AA** = Aminoácido

**ACR** = American College of Rheumatology

**ADN** = Acido desoxirribonucleico

**ANA** = Anticuerpo antinuclear

**Anti-CCP** = Anticuerpo anticitrulinado

**Anti-DNAds** = Anticuerpos contra el ADN de simple cadena.

**AR** = Artritis Reumatoide.

**C1q** = Subcomponente de la vía clásica del sistema del complemento.

**CMH** = Complejo mayor de histocompatibilidad

**DO** = Densidad Óptica.

**EGO** = Examen general de orina

**ELISA** = Ensayo inmunoabsorbente unido a una enzima.

**Fc** = Región de unión del anticuerpo

**FNT** = Factor de Necrosis Tumoral

**FR** = Factor reumatoide

**IDR** = Inmunodifusión Radial.

**IFI** = Inmunofluorescencia indirecta

**IgG** = Inmunoglobulina tipo G (proteína)

**IgM** = Inmunoglobulina tipo M (proteína)

**IL-1** = Interleucina 1

**LB** = Linfocitos B

**LES** = Lupus Eritematoso Sistémico.

**LT** = Linfocitos T

**MAC** = Complejo de ataque a la membrana

**MASP** = Proteína asociada a MBP

**MBP** = Proteína unida a manosa

**mg/L** = Miligramos por Litro

**PCR** = Proteína C reactiva

**ug/mL** = Microgramos por mililitro

**VSG** = Velocidad de sedimentación globular

## GLOSARIO

- **Anafilotoxina:** Sustancia producida en el suero sanguíneo durante la fijación del complemento, que actúa como mediador de la inflamación al inducir la degranulación de los mastocitos y la liberación de histamina; su inyección en animales causa un shock anafiláctico.
- **Aponeurosis:** Expansión tendinosa aplanada que sirve fundamentalmente para conectar un músculo a la parte que desplaza.
- **Apoptosis:** Patrón de muerte celular que afecta a células individuales, caracterizado por un encogimiento, condensación de la cromatina y fragmentación de la célula. (muerte celular programada)
- **Avidez:** Capacidad de unirse a una molécula por afinidad.
- **Citoquinas:** Grupo importante de proteínas que actúan como mediadores de la comunicación entre células vivas. Pueden ejercer una comunicación *parácrina* (células proximales de un mismo tejido, cuando la acción se restringe al entorno inmediato del lugar de secreción), una comunicación *endócrina* (ocurre cuando las citocinas llegan a regiones distintas del organismo mediante sangre o plasma para actuar sobre diferentes tejidos como hígado o cerebro) y *autócrina* (cuando la citocina actúa sobre la célula que la secreta).
- **Citotoxicidad:** Lisis de una célula diana por linfocitos efectores, células NK o activación del sistema del complemento con o sin inducción de anticuerpos.
- **Eosinofilia:** Aumento anormal de eosinófilos en sangre.
- **Fagocitosis:** Englobamiento de microorganismos u otras células o partículas extrañas por parte de los fagocitos.
- **Histona:** Proteína simple, soluble en agua e insoluble en amoníaco diluido, que se encuentra combinada en forma de sales con sustancias ácidas como el ácido nucléico o la globina
- **Inmunocomplejos:** Complejo antígeno-anticuerpo
- **Leucopenia:** Reducción del número de leucocitos de la sangre con un recuento de 5000 mm<sup>3</sup> o inferior.
- **Locus:** Localización específica de un gen en un cromosoma

- **Metaloproteinasas:** Proteína con un ión metálico unido a hemoglobina
- **Proteínas nucleosómicas:** Complejo específico de histona y ADN de las células eucariotas, que se observan como cuentas de collar en una cadena de ADN.
- **Ribonucleoproteínas:** Molécula compuesta por proteína y ácido ribonucleico.
- **Sinoviocitos:** Células sinoviales.
- **Tioéster:** Unión de un ácido carboxilo y un grupo tiol con enlace ester.
- **Traslocación:** Unión de un fragmento de un cromosoma a otro cromosoma no homólogo.
- **Ultrafiltrado:** Filtración a través de un filtro capaz de separar partículas diminutas.

## I. RESUMEN

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) y la Artritis Reumatoide (AR) son enfermedades autoinmunes que se caracterizan por ser entidades de tipo inflamatorio, sistémico y crónico, debido a la presencia de inmunocomplejos, que son los responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, con la consiguiente producción de anticuerpos iniciada por una respuesta inmunitaria. Si la cantidad de inmunocomplejos es grande y el proceso de su depuración no es lo suficientemente rápido estos no alcanzan a ser fagocitados por el sistema retículo endotelial con la rapidez necesaria, por lo tanto entran en circulación, precipitándose en los vasos sanguíneos, a nivel de los glomérulos renales, la sinovial de las articulaciones y en la piel. Estas enfermedades pueden presentarse en cualquier etapa de la vida y en mayor frecuencia en el género femenino.

El objetivo del estudio es determinar la presencia de anticuerpos anti C1q mediante la técnica ELISA y cuantificar la fracción C1q por Inmunodifusión Radial (IDR) para el apoyo al diagnóstico y seguimiento de lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide. Por lo tanto la técnica planteada permitirá que los pacientes con estas enfermedades accedan a un diagnóstico precoz y posteriores controles.

Para tal efecto se realizó un estudio piloto experimental, descriptivo y de tipo test diagnóstico, que se llevo a cabo en el Instituto SELADIS, donde se proceso un total de 49 muestras de pacientes con diagnóstico presuntivo de LES y AR, con muestras de LES tanto positivas como negativas se procedió a la titulación de los componentes de la técnica ELISA-C1q, donde las concentraciones óptimas para el Antígeno (Ag) es 5 ug/mL y Anticuerpo (Ac) tiene una dilución de 1/100. Se utilizaron como controles reactivos y no reactivos, muestras (suero) de pacientes reactivos y no reactivos para el Anticuerpo anti-DNA nativo o de doble tira (ds-DNA), antipéptido cíclico citrulinado (anti-CCP). Obteniendo un valor de Densidad Óptica (D.O.) de 0.327 como punto de corte de la técnica ELISA, luego nuestros resultados fueron enfrentados con las técnicas de referencia para determinar la sensibilidad (S) y especificidad (E) de la técnica en estudio (S=100%, E=87%).

Con relación a la cuantificación de C1q se tomaron en cuenta solo 36 muestras de las 49 en estudio (por limitaciones que se presentaron durante el desarrollo), las mismas se procesaron por la técnica de IDR. Donde se determinó que los rangos de referencia considerados como normales para nuestra población son mayores a 104 ug/mL hasta una concentración de 168.1 ug/mL y aquellos menores a 104 ug/mL los consideramos fuera de rango. En cuanto a la relación que existe entre las dos variables en estudio (niveles de Ac anti-C1q y concentración de C1q) tenemos una relación intermedia e inversamente proporcional y según el test de correlación ( $r^2$  de Spearman) los valores son de  $r^2=-0.77122208$  para pacientes con diagnóstico de LES y un valor de  $r^2=-0.6708352$  para pacientes con diagnóstico de AR. Llegando a la conclusión que la técnica planteada, por su alta sensibilidad y especificidad nos da resultados que pueden ser utilizados como apoyo al diagnóstico de estas enfermedades.

**Palabras clave:** *Anticuerpo anti-C1q; Fracción C1q(Ag); ELISA; IDR.*

## II. INTRODUCCIÓN

El Lupus Eritematoso Sistémico y la Artritis Reumatoide son enfermedades autoinmunes de causa desconocida que no tienen cura <sup>(1)</sup> estas enfermedades se caracterizan por la presencia de inmunocomplejos, con un curso episódico variable, historia natural impredecible y en ocasiones mortal. <sup>(1,2,3)</sup> Dentro de la patogénesis de las enfermedades autoinmunes se encuentran involucradas las proteínas del complemento, bien sea por depósitos de complejos inmunes o por la deficiencia genética de algunos de los factores. <sup>(4)</sup> Las respuestas autoinmunes originan lesiones tisulares y síntomas clínicos por varios mecanismos, tres son los más frecuentes:

- a) Auto anticuerpos dirigidos contra Ag de la membrana celular.
- b) Citotoxicidad celular directa, mediada por linfocitos CD8+ y CD4+.
- c) Acumulación en el suero y en algunos tejidos de inmunocomplejos. <sup>(4,5)</sup>

El sistema del complemento juega un rol importante en la respuesta inmune, de este sistema se conocen tres vías diferentes de activación, estas son: la vía clásica, la vía alterna y la vía de las lectinas. <sup>(1)</sup> En este sistema se involucra más de 30 proteínas y C1q es el primer subcomponente de la vía clásica de activación del <sup>(1,6)</sup> complemento.

El rol de C1q esta asociado con la activación del complemento, colaborando con la remoción de complejos inmunes y células necróticas, estimulando la producción de algunas citoquinas y modulando la función de los linfocitos. Su deficiencia es un raro desorden genético que se debería a mutaciones por infecciones bacterianas recurrentes. <sup>(4,6)</sup> O a la presencia de inmunocomplejos. <sup>(2)</sup>

Estudios recientes establecen la significancia de éste anticuerpo en el diagnóstico y la determinación de la actividad de nefritis lúpica, pudiendo estar presente en varias enfermedades autoinmunes como LES o AR. <sup>(7,8)</sup> Por ello realizaremos la determinación de los niveles del anticuerpos anti-C1q mediante la técnica ELISA en pacientes con diagnostico presuntivo de estas enfermedades y con ello demostrar su significancia y paralelamente se realizará la cuantificación de la fracción C1q por Inmunodifusión radial.

### III. MARCO TEORICO

#### A. TOLERANCIA INMUNITARIA

La tolerancia inmunitaria se define como la falta de respuesta frente a un antígeno inducida por la exposición previa a ese antígeno. Cuando los linfocitos específicos entran en contacto con el antígeno, los linfocitos se pueden activar, produciendo respuestas inmunitarias, de lo contrario puede inactivarse o eliminarse, dando lugar a la tolerancia. <sup>(4,6)</sup>

La autotolerancia, es una propiedad fundamental del sistema inmunitario normal, el fallo de éste mecanismo da lugar a reacciones inmunitarias contra antígenos propios, estas reacciones se denominan autoinmunidad y las enfermedades que producen se llaman enfermedades autoinmunitarias. <sup>(1,6)</sup>

Los trastornos causados por respuestas inmunitarias anormales reciben el nombre de enfermedades por hipersensibilidad. Las respuestas inmunitarias patológicas pueden ser respuestas autoinmunitarias dirigidas contra antígenos propios o respuestas no controladas y excesivas frente a antígenos extraños. <sup>(6)</sup>

Las enfermedades por hipersensibilidad pueden deberse a anticuerpos que se unen a células o tejidos, a inmunocomplejos circulantes depositados en los tejidos o a Linfocitos T (LT) que reaccionan con antígenos presentes en los tejidos. <sup>(4)</sup>

El mecanismo responsable para la ruptura de la tolerancia en el LES aun permanece desconocido sin embargo en los últimos años ha existido un progreso significativo en el conocimiento de las interacciones moleculares regulando la expansión de las células B y T autorreactivos. <sup>(4)</sup>

Este estudio se enfocará en enfermedades producidas por inmunocomplejos también denominado enfermedades por hipersensibilidad tipo III, que se refiere a anticuerpos que pueden formar inmunocomplejos en la circulación que después se depositan en los tejidos, sobre todo en membranas fenestradas, provocando lesiones. <sup>(6)</sup>



## **B. ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR INMUNOCOMPLEJOS**

Los inmunocomplejos que causan enfermedad pueden estar formados por antígenos tanto propios como extraños, unidos a los correspondientes anticuerpos. <sup>(1,7)</sup>

Las características anatomopatológicas de las enfermedades provocadas por inmunocomplejos reflejan la localización de los depósitos, pero no dependen de la procedencia celular del antígeno, por tanto estas enfermedades tienden a ser sistémicas, con una especificidad escasa o nula por tejidos u órganos concretos. <sup>(6)</sup>

Estos anticuerpos forman complejos con antígenos circulantes y estimulan inicialmente la fagocitosis y la eliminación de los antígenos por los macrófagos en el hígado y el bazo. Cuando el número de complejos antígeno-anticuerpo aumenta, algunos se depositan en los lechos vasculares. En estos tejidos, los anticuerpos de los complejos pueden activar el complemento, con la consiguiente disminución de su concentración en el suero. <sup>(1)</sup>

Los complejos que contienen antígenos catiónicos se unen con avidez a los componentes con carga negativa de las membranas basales de los vasos sanguíneos y los glomérulos renales. Los capilares de los glomérulos renales y las membranas sinoviales son vasos a través de los cuales se produce un ultrafiltrado del plasma (para formar orina y líquido sinovial) mediante el paso de líquido a través de la pared capilar a una presión hidrostática elevada, lo que explica que sean las localizaciones más frecuentes del depósito de inmunocomplejos. <sup>(1,6)</sup>

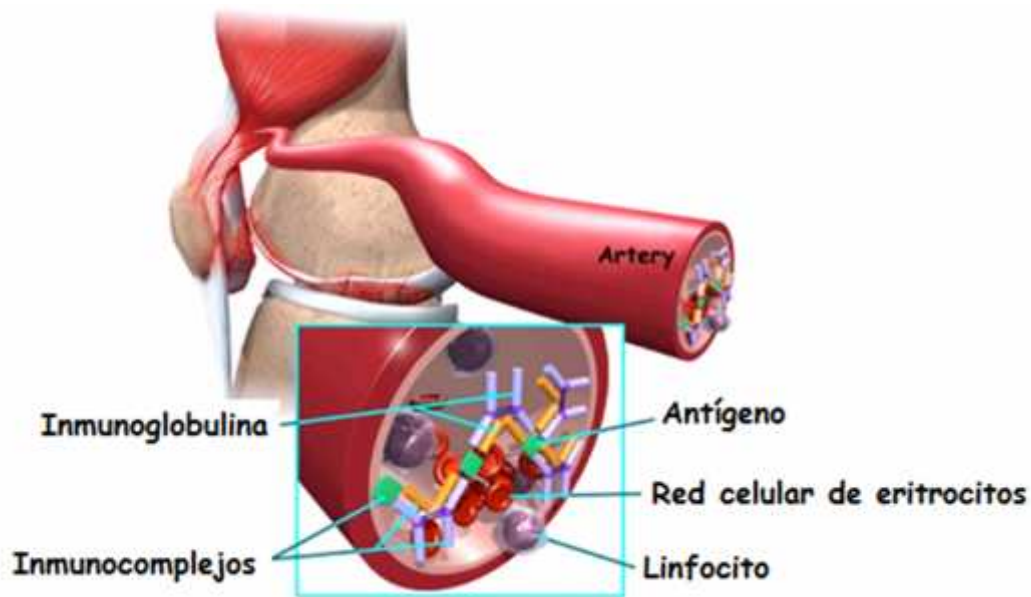
El depósito de los inmunocomplejos en las paredes de los vasos provoca una inflamación, lesión de los vasos como de los tejidos adyacentes, mediada por el complemento y los receptores de los anticuerpos (Fc). En los vasos puede detectarse el depósito de anticuerpos juntamente con complemento, pero si se conoce el antígeno, es posible identificar también sus moléculas en los depósitos. <sup>(1)</sup>

Muchas enfermedades sistémicas de origen inmunitario se deben al depósito de inmunocomplejos en los vasos sanguíneos. Un prototipo de estas enfermedades es el lupus eritematosos sistémico (LES), una enfermedad autoinmunitaria en la que se producen numerosos anticuerpos. <sup>(1,2)</sup>

## C. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es un ejemplo de enfermedad producida por una alteración de los mecanismos de tolerancia inmunológica. La lesión inicial consiste en la aparición de Linfocitos B (LB) periféricos autorreactivos que escapan a los habituales procesos de regulación. Estos LB dan lugar a la aparición de una enfermedad autoinmune mediante la producción de autoanticuerpos y también a través de la activación de Linfocitos T (LT) igualmente autorreactivos. <sup>(2)</sup> (Fig.1)

**Figura N°1.** Formación de complejos inmunitarios



**Fig.1** Componentes esenciales en la formación de inmunocomplejos, interacción de proteínas, como las inmunoglobulinas, antígeno y células como linfocitos y glóbulos rojos, los cuales tienen receptores para eliminar inmunocomplejos.

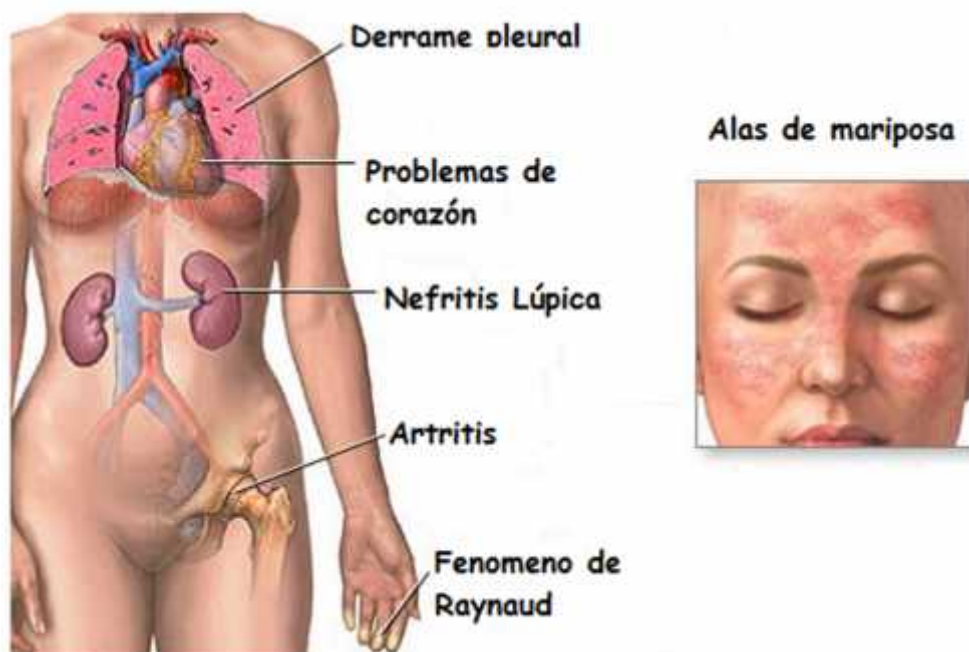
**FUENTE:** ANTHONY J. Shaia. Les-arthri

Ésta es una enfermedad de causa desconocida, caracterizada por la aparición de manifestaciones clínicas multisistémicas, y casi invariablemente por la presencia en la sangre de anticuerpos dirigidos contra uno o más componentes del núcleo y otros antígenos intracelulares. Puede presentarse en cualquier edad, pero por lo general,

afecta a mujeres entre los 15 y los 65 años. La relación mujer / hombre presenta variaciones asociadas con la edad y la raza. <sup>(2,5,9)</sup>

Puede afectar cualquier parte del organismo, aunque los sitios más frecuentes son el corazón, articulaciones, piel, pulmones, vasos sanguíneos, hígado, riñones y sistema nervioso. <sup>(2, 5,9)</sup> (Fig.2)

**Figura N° 2** Zonas afectadas por Lupus Eritematoso Sistémico



**FUENTE:** SCHWEINEBERG López Johana, Les.

El curso de la enfermedad es impredecible, que consiste en una serie de enfermedades activas (periodos de Exacerbación) e inactivas (periodos de remisión). <sup>(10)</sup> La causa de la enfermedad es desconocida sin embargo, es posible que exista una interacción entre: <sup>(2,5,9)</sup>

- ✓ Factores genéticos <sup>(9,11)</sup>: Presencia de antígeno del locus HLA-DR2, tienen mayores posibilidades de producir anticuerpos anti DNA de doble tira, aquellos con HLA-DR3 producen anticuerpos anti SS-A y anti SS-B y quienes poseen HLD-DR4 y DR3 generan anticuerpos anti Sm y anti-RNP. Otro caso puede ser la carencia de los factores C1r, C1s, C4, C2 ó C3 <sup>(11,12)</sup>

- ✓ Factores ambientales: No se ha identificado pero se sospecha que sea de tipo viral, entre los causantes podría ser algunos retrovirus C o virus de la estomatitis vesicular. (por infecciones recurrentes) <sup>(11,12)</sup>
- ✓ Factores físicos: Luz UV, induce producción de anticuerpos e *in vivo* induce lesiones cutáneas. <sup>(10,11)</sup>
- ✓ Factores químicos: Inducido por medicamentos, pero que una vez suspendidas esta desaparece. <sup>(11)</sup> porque tienen la característica de no fijar complemento como por ejemplo la Hidralacina, cloranfenicol, isoniazida y procainamida.
- ✓ Factores hormonales: En concreto los estrógenos femeninos, se han propuesto como causantes de la enfermedad, ya que incrementan la formación de anticuerpos anti-DNA y aumentan la gravedad de la enfermedad. <sup>(13)</sup> También se ha observado que las píldoras anticonceptivas pueden acelerar su aparición en mujeres genéticamente predispuestas. <sup>(5)</sup>

### **1. Patogénesis del lupus eritematoso sistémico**

Los anticuerpos patógenos en la enfermedad son anticuerpos de afinidad elevada dependiente de los LT y específicos de los componentes nucleares. Se supone que los LB específicos del ADN propio se unen a complejos formados por proteínas nucleosómicas y ADN, procesan las proteínas y presentan los epítopos peptídicos a los LT cooperadores, con la consiguiente producción de autoanticuerpos anti-ADN. No se sabe si el defecto patogénico primario (pérdida de la tolerancia central o periférica) afecta a los LB, LT cooperadores o a ambos. <sup>(11)</sup>

Parece que los antígenos que provocan la síntesis de autoanticuerpos proceden de las células en apoptosis y esto explicaría las exacerbaciones de la enfermedad, cuando el paciente se expone a la Luz Ultravioleta (que estimula la apoptosis). <sup>(11)</sup>

Los componentes del suero como los factores de complemento, Proteína C reactiva, y algunas glicoproteínas, son importantes para una fagocitosis operativa eficiente.

Con LES, estos componentes a menudo están perdidos, reducidos <sup>(13, 14)</sup> o son ineficaces.

Si la capacidad de aclaración es dañada, conduce a un proceso de apoptosis y finalmente a la necrosis secundaria de las células, estas liberan fragmentos nucleares como potenciales autoantígenos, así como señales de peligro internas, induciendo la maduración de las células dendríticas, puesto que han perdido la integridad de sus membranas. <sup>(2)</sup>

La autoinmunidad posiblemente resulta por la prolongada exposición a los autoantígenos nucleares e intracelulares obtenidos de las difuntas células apópticas y necróticas secundarias. La tolerancia de LB y LT para las células apópticas es abrogada, y los linfocitos son activados por estos autoantígenos; la inflamación y la producción de autoanticuerpos por las células plasmáticas se inicia. <sup>(13, 15)</sup>

## **2. Manifestaciones clínicas**

Las manifestaciones clínicas más importantes consisten en erupciones cutáneas, artritis y glomerulonefritis. La gravedad varía entre leve e intermitente o persistente y fulminante. <sup>(9)</sup>

**a)** Los síntomas y signos generales son: <sup>(9,13)</sup>

- ✓ Cansancio, malestar general
- ✓ Fiebre, artralgias y mialgia
- ✓ Anorexia y adelgazamiento

**b)** Las manifestaciones en todo el cuerpo son las siguientes <sup>(9)</sup>

- ✓ Manifestaciones cutáneas (Fig.3 a-f)
- ✓ Manifestaciones musculoesqueléticas
- ✓ Manifestaciones gastrointestinales

- ✓ Manifestaciones hematológicas
- ✓ Manifestaciones cardíacas
- ✓ Manifestaciones renales
- ✓ Manifestaciones pulmonares
- ✓ Manifestaciones oculares
- ✓ Manifestaciones neurológicas
- ✓ Anomalías de los LT

En los pacientes con LES se encuentran muchos autoanticuerpos distintos, y los más frecuentes son los antinucleares, principalmente anti-DNA, otros se dirigen frente a ribonucleoproteínas, histonas y antígenos nucleolares. <sup>(13)</sup>

Los inmunocomplejos formados por estos autoanticuerpos y sus correspondientes antígenos son los responsables de la glomerulonefritis, la artritis y la vasculitis. <sup>(2)</sup>

**Figura N°3** Erupciones cutáneas leves y graves.



**Fig.3a** Eritema en forma de alas de mariposa en la cara



**Fig.3b** Erupciones cutáneas en las manos

**FUENTE:** MEDSTUDENTS. Lupus.





**Fig.3c** Exantema maculopapuloso difuso en cara, debido a exposición al sol.



**Fig.3d** Exantema maculopapulosa en pecho con lesiones ampollosas.



**Fig.3e** Ulceras superficiales y ligeramente dolorosas en la boca y la nariz, presenta la forma de las de mariposa.



**Fig.3f** Eritema multiforme en la espalda

**FUENTE:** MEDSTUDENTS. Lupus

### 3. Diagnóstico <sup>(17)</sup>

Se lo realiza mediante la:

- ✓ Historia clínica
- ✓ Examen físico
- ✓ Laboratorio:
  - ❖ Recuento completo de la sangre
  - ❖ Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) y Proteína C Reactiva (PCR), estas pruebas miden los niveles de inflamación.
  - ❖ Pruebas de función renal: Proteinuria, depuración de creatinina, Examen General de Orina (E.G.O.).
- ✓ Pruebas inmunológicas como
  - ❖ Anticuerpo antinuclear (ANA) por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)\*
  - ❖ Anticuerpo anti-DNA doble cadena (anti-DNAds)<sup>†</sup>
  - ❖ Anticuerpo anti-DNA simple cadena (anti-DNAds)
  - ❖ Anticuerpos antifosfolipídicos
  - ❖ Anti-Ena (Ro, La, Sm, RNP)
  - ❖ Anticuerpos anti C1q (se presenta en mas de 40% de los pacientes con LES por la técnica ELISA). <sup>(16)</sup>
  - ❖ Componentes del sistema del complemento C3, C4, CH50 (se define como la cantidad de suero necesario para realizar el 50% de de hemólisis de una suspensión de eritrocitos de carnero, sensibilizados

---

\* El análisis por IFI para ANA proporciona un 100% de sensibilidad y un 69% de especificidad, según el laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética. <sup>(15)</sup>

<sup>†</sup> Los anticuerpos contra la doble hélice (dsDNA) son los más característicos del LES. <sup>(2)</sup>



con anticuerpo de conejo “hemolisina”), CH100 (por lo tanto éste representa el 100% de actividad hemolítica), C1q, <sup>(17)</sup> (niveles bajos sugieren consumo por parte del sistema inmunitario). Los tres primeros son para monitorizar el tratamiento, y la disminución de C1q se asocia a mal pronóstico de Nefropatía. <sup>(14)</sup>

#### **4. Tratamiento:**

Aunque hasta el momento no hay cura, los síntomas se tratan principalmente con corticoesteroides e inmunodepresores. <sup>(2)</sup> para controlar la enfermedad y prevenir brotes. Es difícil valorar la eficacia de los fármacos utilizados en la terapéutica de LES, ya que existen remisiones espontáneas. <sup>(18)</sup>

- ✓ Corticoesteroides como la prednisona disminuye los valores de inmunoglobulina y títulos de anticuerpo, suprimiendo la respuesta inmunitaria
- ✓ Inmunosupresores como el micofenolato que controla y previenen brotes, utilizado también para prevenir el rechazo a los alotrasplantes renales.
- ✓ Antirreumáticos como la azatioprima que reduce la inflamación en la nefritis lúpica y mejora la función renal.
- ✓ Ciclofosfamida utilizado en nefritis severa u otras complicaciones de órganos dañados, cuando no responde a la azatioprima. <sup>(19)</sup>

Los pacientes que requieren esteroides frecuentemente pueden desarrollar obesidad, diabetes y osteoporosis. De ahí que los esteroides sean evitados siempre que sea posible. Se debe evitar los rayos solares, para prevenir problemas derivados de la fotosensibilidad que pueden tener algún efecto. <sup>(9,18)</sup>

Los pacientes con LES leve y sin nefritis no requieren corticosteroides y pueden ser tratados de manera adecuada con antiinflamatorios no esteroideos, para aliviar los síntomas de artritis y otras molestias, o antipalúdicos cloroquina e hidroxiclороquina (contribuyen a reducir la inflamación en la artritis reumatoide, que resultan eficaces en el tratamiento de las manifestaciones cutáneas del lupus. <sup>(10)</sup>

## **D.- NEFRITIS LUPICA**

El compromiso renal en LES es variado, por un lado hay pacientes que no muestran ninguna evidencia de nefritis a lo largo de su enfermedad, mientras que otros desarrollan un cuadro fulminante con pérdida rápida de la función renal, <sup>(18)</sup> la mayoría de estos pacientes se encuentra entre estos dos extremos. <sup>(14)</sup>

En los pacientes con LES activo, si existiese daño a nivel renal es común un incremento de los títulos de Inmunoglobulina G (IgG) contra DNAs, Sm y C1q <sup>(20,23)</sup> permaneciendo incierto que el papel del Ac anti DNAs tengan una relación directa en la patogénesis de la enfermedad, <sup>(21)</sup> por otro lado los niveles elevados de anticuerpos dirigidos contra C1q correlacionan muy bien con actividad renal. <sup>(20,23,24)</sup> Sin embargo también esta presente la disminución de los niveles del sistema del complemento, como C3, C4, CH50 y C1q. <sup>(20,26)</sup> La reducción del complemento (C1q,C2,C4) por activación de la vía clásica caracteriza a la Glomerulonefritis Mesangial membranosa (GMN) y a la bacteriemia crónica. <sup>(26)</sup>

Esto hace pensar que los depósitos de complejos inmunes pueden estar acumulados en el mesangio como parte de los residuos de filtración, lo cual puede ser manejado por el sistema de aclaración mesangial, llevando a una lesión glomerular leve. Pero con grandes números de complejos y de tamaños intermedios o grandes, este satura la capacidad del mesangio para aclarar macromoléculas, dando como resultado la acumulación de estos complejos con una localización subendotelial. Esto puede activar los mediadores inflamatorios circulantes tales como la cascada del complemento. <sup>(3)</sup>

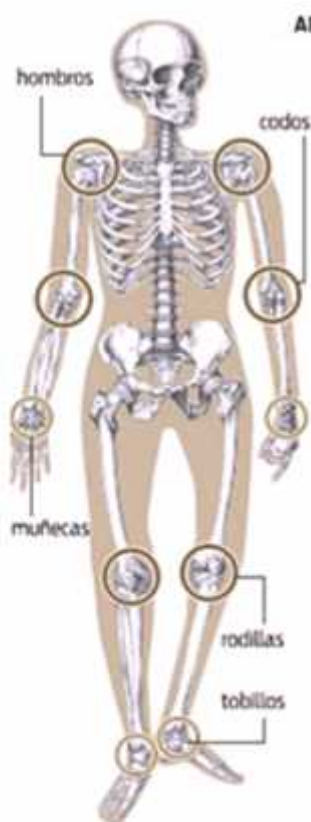
## **E.- ARTRITIS REUMATOIDE**

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad sistémica crónica, de causa desconocida, que afecta de modo principal las membranas sinoviales de múltiples articulaciones (Fig. N°4a), tiene una gran cantidad de manifestaciones tanto articulares como extra articulares. <sup>(1,27)</sup> Esta enfermedad suele iniciarse entre los 20 y 40 años, aunque puede comenzar a cualquier edad, la susceptibilidad a la artritis reumatoide está determinada de manera genética. <sup>(27,28,29)</sup> El signo clave de la

enfermedad es el potencial nivel de la inflamación sinovial para producir una destrucción del cartílago con erosiones óseas y deformidades articulares en fases posteriores. <sup>(27)</sup> (Fig.4b)

El proceso inflamatorio pone en peligro tendones, ligamentos, aponeurosis, músculos y huesos (Fig.4c) Los mediadores de la inflamación pueden trasladar el trastorno a diferentes estructuras orgánicas. <sup>(28)</sup> Los criterios actuales del ACR (escala desarrollada por el American College of Rheumatology para la clasificación de la AR) reducidos a siete en la forma clásica, aporta una sensibilidad del 91 % y una especificidad del 89%. <sup>(23)</sup> (Tabla N°1) <sup>(30)</sup>

**Figura N° 4** Articulaciones afectadas por Artritis Reumatoide



**Fig.4a** Afectación de las principales articulaciones en el cuerpo.



**Fig.4b** Deformación de la mano (etapa tardía)



**Fig.4c** Inflamación de la sinovial, el cartilago se hace tieso y agujereado.

**FUENTE:** HOY Editorial – Artritis reumatoide

Entre estos, únicamente el signo de rigidez matutina puede basarse en el informe del paciente. Los primeros 5 criterios deben estar presentes de manera constante durante por lo menos seis semanas. <sup>(31)</sup>

La forma clásica requiere de la presencia de siete de los once criterios y la forma definida requiere cinco de los once.

**TABLA N°1** Criterios para el Diagnóstico de la Artritis Reumatoide <sup>(30)</sup>

1. Rigidez matutina.
2. Dolor al moverse o sensibilidad dolorosa a la presión por lo menos en una articulación.
3. Hinchazón por lo menos en una articulación.
4. Hinchazón en una segunda articulación (cualquier intervalo libre de síntomas articulares entre dos ataques articulares que no suele ser superior a tres meses),
5. Afección simultánea de la misma articulación en ambos lados del cuerpo.
6. Nódulos subcutáneos sobre prominencias óseas, o superficies extensoras, o en regiones yuxtaarticulares.
7. Signos radiográficos típicos de artritis.
8. La prueba de aglutinación resulta positiva para el factor reumatoide.
9. Se obtiene un precipitado deficiente de mucina (coágulo deshilachado en solución turbia) al añadir líquido sinovial a ácido acético diluido.
10. Cambios histológicos característicos en la sinovial.
11. Cambios histológicos característicos en nódulos subcutáneos.

**FUENTE:** BENNET C, textbook of Medicine. AR.

Se desconoce la causa de las respuestas inmunitarias y la inflamación subsecuente en la AR pero puede ser que influyan los siguientes factores: <sup>(14)</sup>

- ✓ Factores genéticos: La susceptibilidad a la AR está ligada al haplotipo HLA-DR4 y en menor medida a DR1 y DRW1D. En estos alelos, las secuencias de aminoácidos son casi idénticas a partir de la posición 65 a 75 de la cadena . Estos aminoácidos se localizan dentro o cerca de la hendidura de unión a los

péptidos de las moléculas de HLA, lo que indica que intervienen en la presentación de antígenos o en el reconocimiento de los LT. <sup>(1)</sup>

- ✓ Factores ambientales: Se piensa que el microorganismo debe ser ubicuo. Entre estos se encuentra el *Mycoplasma*, *virus de Epstein-Barr*, *citomegalovirus*, *parvovirus* y *virus de la rubéola*, aunque no existe ninguna prueba concluyente de que estos u otros agentes infecciosos produzcan la AR.<sup>(31)</sup>
- ✓ Algunos autores sugieren que también podrían involucrarse factores hormonales ya que esta enfermedad se presenta con mayor frecuencia en el género femenino, pero aún no hay nada concreto.<sup>(31)</sup>
- ✓ Depósito de inmunocomplejos en las membranas sinoviales, los cuales activan los mecanismos de inflamación.<sup>(31)</sup>

## 1. Patogénesis de la artritis reumatoide

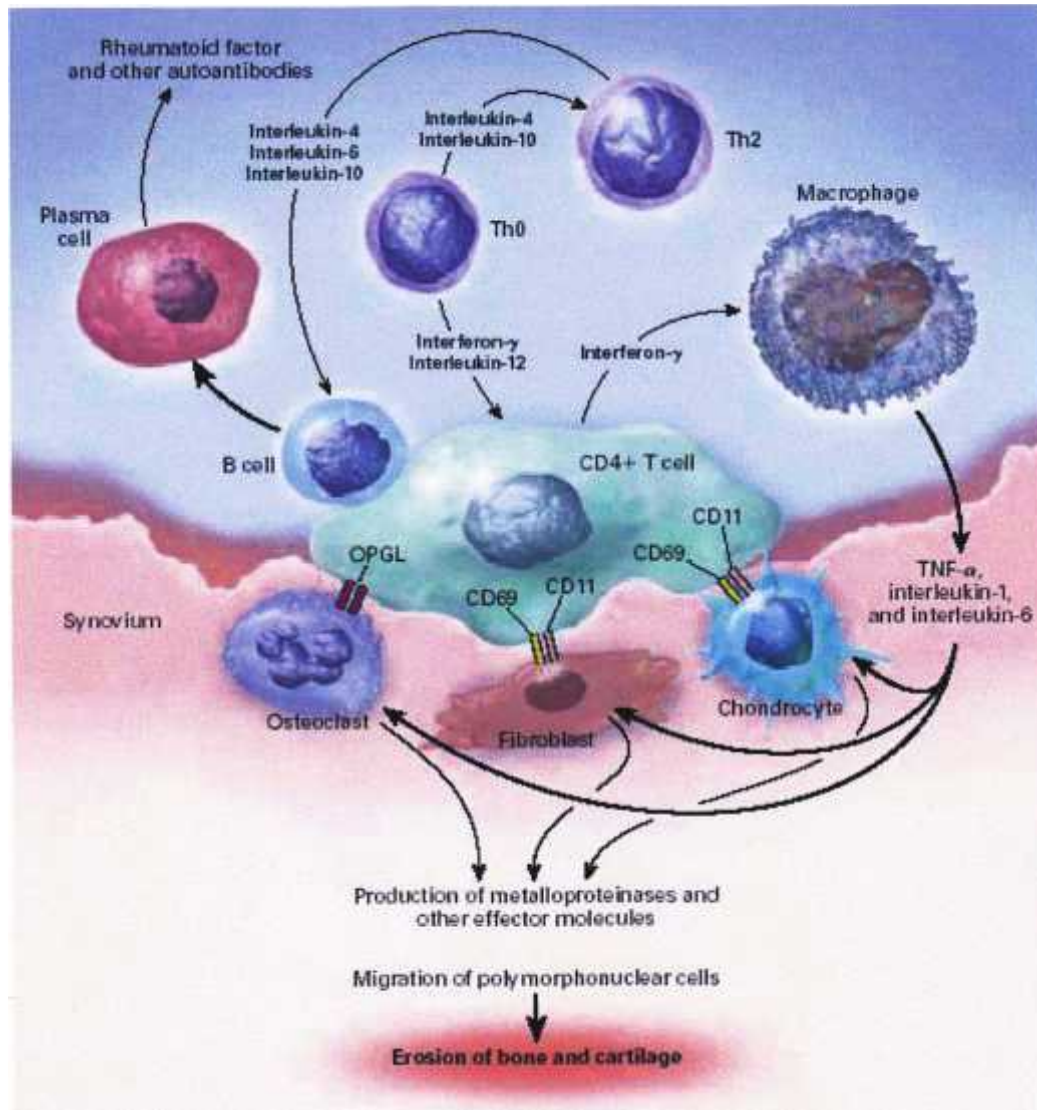
Las manifestaciones clínicas de la artritis reumatoide se inician con la localización de los leucocitos en el líquido sinovial, que cuando son activados producen el dolor y la inflamación. Estos linfocitos producen mediadores proteicos, citoquinas como la interleucina-1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF) que inician la inflamación, atraen otras células inmunológicas al sitio, activan células residentes y causan un exceso en la producción del líquido sinovial. <sup>(30,31)</sup> (Fig.5)

Los LT llegan a la articulación por un proceso complejo que media el paso de las células a través del endotelio vascular hasta el tejido sinovial. En este proceso las células se adhieren al lumen del vaso capilar por medio de moléculas de adhesión expresadas en las células endoteliales. <sup>(14,30)</sup>

Esto resulta en la traslocación de LT hacia el líquido sinovial. Después estas células interactúan con los macrófagos tipo A de los sinoviocitos; la consecuencia de esta interacción, es la activación de otras células que producen varias citoquinas, éstas también contribuyen a la extravasación de los linfocitos, al alterar la expresión de las moléculas de adhesión; numerosas citoquinas regulan la adhesión celular,

incluyendo la IL-1 y el TNF. <sup>(14,30)</sup> Estas alteraciones inmunológicas pueden llevar a la producción del Factor Reumatoide (FR) el cual funciona como autoanticuerpos (IgM) contra la IgG, formando complejos inmunitarios. <sup>(14)</sup>

**FIGURA Nº 5** Cadenas de señales que se dan en la Artritis Reumatoide

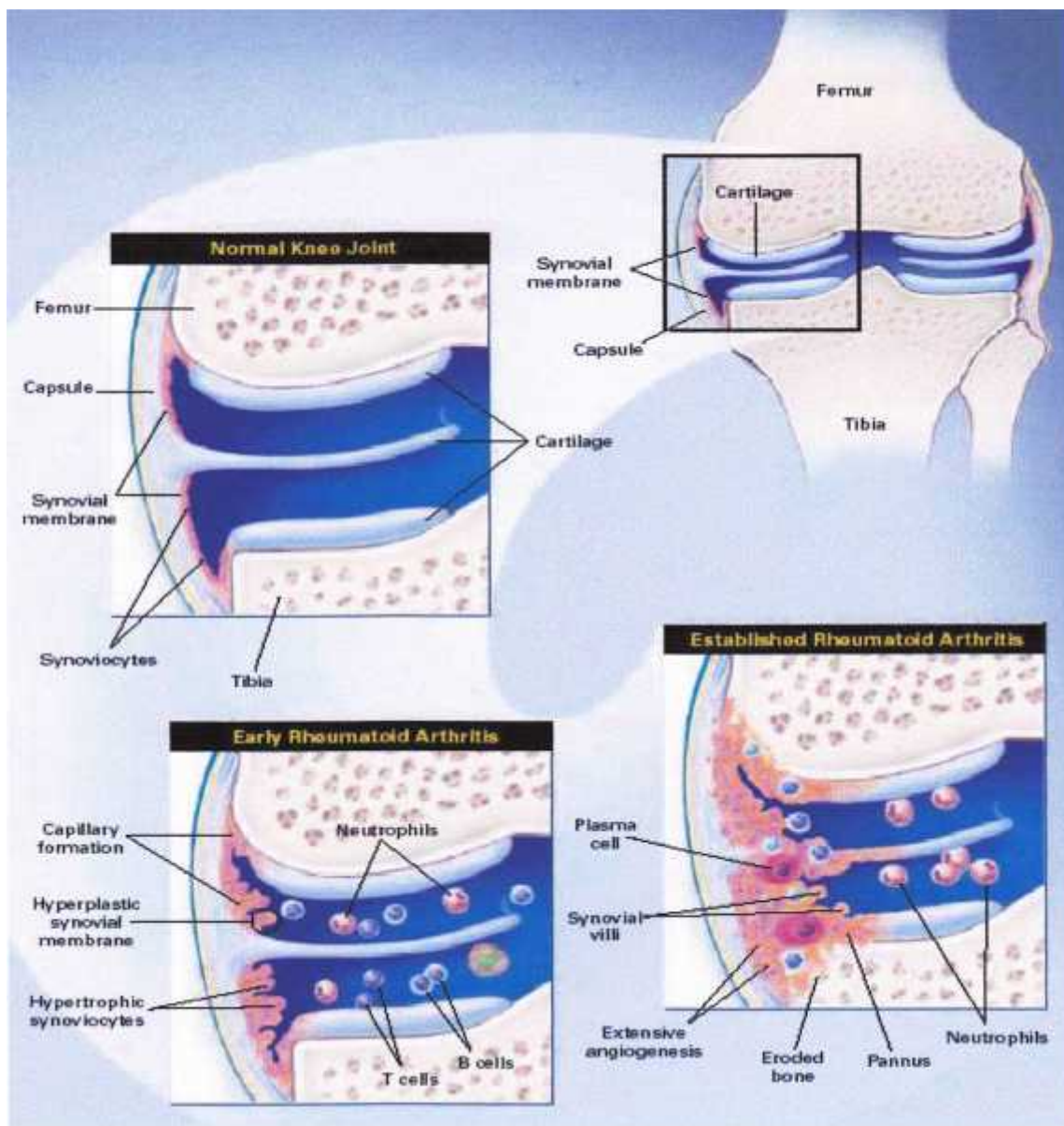


La mayor parte de las células y citoquinas que participan en la destrucción de la articulación, están mediadas por el FNT – y la IL-1. Th2: Célula T cooperadora tipo II. Th0: precursor tipo I y tipo II de la célula T cooperadora. OPGL: ligando de la osteoprotegerina.

**FUENTE:** CIMED GARCÍA M. fisiopatología-tratamiento. AR

**FIGURA Nº 6** Patogénesis de la Artritis Reumatoide





Al inicio la membrana sinovial se vuelve delgada debido a hiperplasia e hipertrofia de las células de la misma. Una extensa red de sangre nueva comienza a formarse en el espacio sinovial. Los LT ( $CD4^+$ ) y LB se infiltran en la membrana sinovial. Estas se encuentran inclusive en el líquido sinovial, junto con neutrófilos, comenzando a invadir el cartílago. En la AR declarada, la membrana sinovial se comienza a transformar en un tejido inflamatorio que invade y destruye el cartílago y el hueso adyacente.

**Fuente:** CIMED GARCÍA M, fisiopatología - tratamiento. AR

Altos niveles de FR se correlacionan con la severidad de la enfermedad, lo que puede resultar en un aumento de la inflamación, al depositarse estos complejos en la articulación y activarse el complemento. <sup>(14,30,32)</sup>

La membrana sinovial de pacientes con AR, está caracterizada por una hiperplasia, aumento de la vascularidad y un infiltrado de células inflamatorias, principalmente células T CD4<sup>+</sup>, principales responsables de la respuesta inmune mediada por células (median las reacciones de hipersensibilidad retardada). <sup>(14,32)</sup>

La principal función del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) clase II (HLA-II) es la presentación de péptidos antigénicos a las células CD4<sup>+</sup>, con lo cual se propone fuertemente que la AR es causada por un antígeno (endógeno o exógeno) artritogénico no identificado. <sup>(14,30)</sup>

## 1. a) Células y moléculas involucradas en la patogénesis de la AR

- ❖ Células T: Son predominantemente CD4<sup>+</sup>, se acumulan en el tejido sinovial y expresan un fenotipo de *células de memoria*, éstas expresan moléculas de adhesión permitiendo su unión al endotelio vascular y su movimiento hacia el sinovio, contribuyen a la producción de Ac (FR) y la diferenciación de células B. <sup>(14,30)</sup>
- ❖ CD4<sup>+</sup> :
  - ✓ TH1 produce citoquinas proinflamatorias (IL-2, INT , FNT ) que median reacciones de hipersensibilidad.
  - ✓ TH2 produce citoquinas (IL-4, IL-6, IL-10) que se encargan de la diferenciación y activación de los LB. <sup>(11,29,32)</sup>
- ❖ IL-6: Se relaciona con los niveles de elevados del FR y PCR; aumenta la resorción ósea, pudiendo ser importante en la osteoporosis <sup>(14,30,33)</sup> periarticular.



- ❖ Sinoviocitos tipo A: Producen citoquinas IL- 1 , FNT- , IL-8 (responsable de atraer neutrófilos) que median la destrucción del cartílago y tejidos relacionados con las articulaciones. <sup>(14,30,33)</sup> (Fig. 5)
- ❖ IL- 1 , FNT- : Son potentes estimuladores de las células mesenquimales, así como de fibroblastos sinoviales, osteoclastos y condrocitos; estas liberan metaloproteinasas de la matriz las cuales son destructores tisulares. Otra función es la de inhibir la producción de inhibidores de metaloproteinasas por los fibroblastos sinoviales, esta acción dual es la que genera el daño en la articulación y la degeneración del hueso. <sup>(14,30,33)</sup> (Fig. 6)

En la articulación de la rodilla normal, la sinovia consiste en una membrana sinovial (usualmente una o dos células de ancho) con la correspondiente pérdida del tejido conectivo. Las células del recubrimiento sinovial son designadas tipo A (sinoviositos tipo macrófagos) o tipo B (sinoviositos tipo fibroblastos). <sup>(14,30)</sup>

La apoptosis aumenta en el tejido sinovial de los pacientes con artritis reumatoide. Durante la respuesta inmune, la apoptosis elimina predominantemente a las células programadas para llevar a cabo una función específica como enzimas o síntesis de citoquinas. <sup>(31)</sup>

## **2. Manifestaciones clínicas <sup>(34)</sup>**

Comienza de forma insidiosa con:

- ✓ Fatiga y anorexia.
- ✓ Debilidad generalizada, malestar.
- ✓ Sintomatología musculo esquelética vaga (sinovitis).
- ✓ Pérdida de peso.
- ✓ Alteraciones vasomotoras.
- ✓ Dolor periarticular vago o rigidez que persiste durante semanas o meses.

- ✓ Tumefacción articular simétrica con rigidez por la mañana y el día.
- ✓ Calor, hipersensibilidad y dolor. <sup>(8)</sup> (Fig.7a)

**Figura N°7** Manifestaciones clínicas en las articulaciones por AR



**Fig. 7a** Enrojecimiento, calor y dolor en la articulación del tobillo.



**Fig.7b** Deformación de los dedos de la mano con pérdida total de su funcionalidad.

**Fuente:** HOY Editorial Artritis Reumatoide

### 3. Diagnóstico

No existe ninguna prueba específica para el diagnóstico de AR no obstante se puede diagnosticar mediante proteínas de fase aguda como <sup>(35,36)</sup>:

- ✓ Historia clínica
- ✓ Examen físico
- ✓ Laboratorio:
  - ❖ Proteína C reactiva (PCR), Factor reumatoide (FR)
  - ❖ Velocidad de Sedimentación Globular (VSG).
  - ❖ Leucopenia y Eosinofilia
  - ❖ Anticuerpos anticitoplasmáticos del neutrófilo: citoplasmático (cANCA) y perinuclear (pANCA),

No son específicos pero están presentes a concentraciones elevadas en los sueros de estos pacientes con artritis reumatoide. <sup>(35)</sup>

- ✓ Últimamente se ha descrito un nuevo anticuerpo específico para la AR llamado antipéptido cíclico citrulinado (anti-CCP) de alta especificidad. Los anti-CCP son más específicos (96%) que el FR aunque ligeramente menos sensible (48%) y la combinación de las pruebas proporciona un alto valor predictivo para positivos (91%) y para negativos (78%). Este patrón se asocia con mayor riesgo de signos radiológicos de daño articular y permite una buena predicción de la agresividad de la AR. Así, se podría afirmar que la determinación de anti-CCP en las artritis reciente podría contribuir a facilitar el diagnóstico de las AR en fase precoz. <sup>(39)</sup>

#### **4. Tratamiento**

El tratamiento de la AR debe dirigirse a disminuir la actividad inflamatoria, evitar la progresión articular y sus consecuencias, el objetivo ideal es conseguir la remisión de la enfermedad u obtener el mejor control posible de la actividad.

Tratamiento de *Primera línea*: <sup>(31,34,36)</sup>

- ✓ Antiinflamatorios no esteroideos,
- ✓ Glucocorticoides.

Tratamiento de *Segunda línea* son:

- ✓ Metotrexato (MTX) propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras. Sus efectos secundarios son la toxicidad hematológica, hepática y pulmonar.
- ✓ Cloroquina e hidroxiclороquina (implicadas en la quimiotaxis y fagocitosis)
- ✓ Sales de oro, Leflunomida, Ciclosporina, Azatioprina, Ciclofosfamida. <sup>(28)</sup>

## F. SISTEMA DEL COMPLEMENTO

El sistema del complemento es uno de los principales mecanismos efectores de la inmunidad humoral como también de la inmunidad innata, consta de proteínas séricas y de superficie celular que interactúan entre ellas y con otras moléculas del sistema inmunitario de una forma sumamente regulada. <sup>(32)</sup>

La activación del complemento supone la proteólisis secuencial de proteínas para generar enzimas con actividad proteolítica. <sup>(32)</sup>

Este sistema complejo, del que en la actualidad se conocen más de 30 proteínas, participan 13 en el circuito de activación, 7 del sistema de control y 10 que sirven de receptores a las moléculas originadas durante el proceso de activación; constituyen más de 120 de las proteínas presentes en el plasma, por ello su importancia. <sup>(32,39)</sup>

Las principales funciones del sistema del complemento son: <sup>(4)</sup>

- ❖ Lisis celular.
- ❖ Respuesta inflamatoria.
- ❖ Opsonización.
- ❖ Neutralización de virus.
- ❖ Eliminación de complejos inmunes.

Una de estas funciones se lleva a cargo del ligando C1q, éste es el aclaramiento de inmunocomplejos (complejos antígeno-anticuerpo circulantes) donde pueden ser eliminados de la circulación, si el complejo se une a C3b.

Los eritrocitos tienen receptores del complemento que interactúan con los complejos inmunes cubiertos por C3b y los lleva al hígado y al bazo para su destrucción. <sup>(4,32,39)</sup>

Pero si estos no son eliminados de manera correcta las consecuencias son las enfermedades que con anterioridad se explicaron.

**Tabla Nº 2** Funciones básicas del complemento <sup>(39,40)</sup>

Ligando	Células que lo expresan	Funciones
C3b iC3b C4b C5b67	Eritrocitos, linfocitos T y B, células del sistema fagocítico mononuclear (SFM), neutrófilos	Aclaramiento de inmunocomplejos, Fagocitosis, Quimiotaxis
C3b iC3b C3d C3dg C5b-9	linfocitos B, cél.dendríticas foliculares, cel.epiteliales	Citolisis, Atrapamiento de complejos en centros germinales
iC3b	SFM, neutrófilos, NK	Fagocitosis, Anclaje al endotelio, diapedesis
iC3b	SFM, neutrófilos, plaquetas, cel. dendríticas	Como CR3
C3a	Mastocitos, basófilos, cél. Endoteliales, cel.músculo liso	Degranulación, Aumento de la permeabilidad vascular, Contracción músculo liso
C5a	Mastocitos, Basófilos, Cél. Endoteliales, neutrófilos	Quimiotaxis, Opsonización
C1q	Leucocitos, plaquetas	Aclaramiento de inmunocomplejos

**FUENTE:** YANELSKYS P. Complemento

## 1. Mecanismos de activación del complemento

En la activación se ponen en marcha reacciones en cascada, de forma que en cada reacción se genera un producto de dos fragmentos y tienen actividad biológica. Son tres formas por las que se puede activar el complemento: <sup>(4,32,39)</sup>

- ✓ La vía alternativa.- Se activa sobre las superficies de las células microbianas sin los anticuerpos. <sup>(4)</sup>
- ✓ La vía clásica.- Se activa por ciertos isotipos de anticuerpos unidos a antígenos. Como el tipo IgG1, IgG2 o IgG3 (dos anticuerpos cercanos) o del tipo IgM. (un anticuerpo) <sup>(4)</sup>
- ✓ La vía de las lectinas.- Se activa por una lectina plasmática que se une a manosa sobre los microorganismos. <sup>(4)</sup>

Las tres vías convergen en la escisión de la fracción de C3 y C5, donde C5 se escinde en C5a y C5b, este es el primer factor de la vía terminal o lítica. <sup>(4)</sup>

Una vez iniciado se produce una amplificación progresiva de las reacciones hasta alcanzar su objetivo. El inicio por error de esta cadena de reacciones acarrearía en

serias consecuencias para la salud, entre estas las enfermedades autoinmunes ya mencionadas con anterioridad como LES y AR. <sup>(4)</sup>

## 2. Vía alternativa

Esta vía se inicia en presencia de gérmenes y no necesita la actuación de anticuerpos para activarse, por lo que representa un mecanismo de defensa importante en los estadios iniciales de la infección, cuando aún no se ha hecho efectiva la respuesta inmune humoral. <sup>(39)</sup>

El primer factor de esta vía, es el C3, tiene una activación permanente pero moderada y junto con otros factores de control hace que la vía no se dispare y se amplifique indebidamente. La activación y amplificación ocurren solamente en presencia de ciertos agentes, principalmente bacterias. <sup>(39)</sup>

Se distinguen dos situaciones en esta vía:

### a) Estado de reposo

Existe la escisión lenta de C3, a consecuencia de ello quedan 2 fragmentos C3a y C3b de mayor tamaño, en el cual queda un enlace tioéster expuesto. En ausencia de infección el C3b permanece en la fase fluida y se une a una molécula de agua, quedando el enlace hidrolizado e inactivado. <sup>(39)</sup>

### b) En estado de amplificación

C3b, se encuentra en todos los tejidos del organismo y sangre, con la activación de éste forma un enlace covalente con la superficie del germen que amplifica la vía alternativa. <sup>(39)</sup>

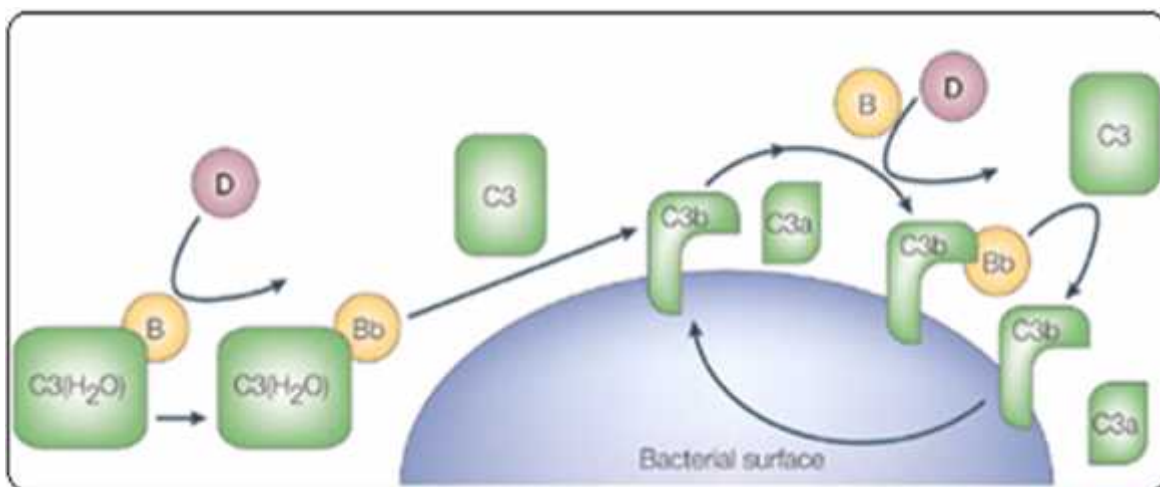
El factor B, se une a C3b, formando el complejo C3bB (Fig.8), dando inicio a la cascada de reacciones de la vía alternativa siempre y cuando este **anclada** a la superficie de una célula microbiana o del huésped. <sup>(39)</sup>

Sobre el factor C3bB actúa el factor D, con actividad serinesterasa, escindiéndolo en un pequeño fragmento Ba y otro de mayor tamaño que se queda unido a C3b,

formando el complejo C3bBb que es la C3 – convertasa de la vía alternativa y su función de escindir más moléculas de C3 amplificándose secuencialmente. <sup>(32,39)</sup>

La properdina, se une a C3bBb para dar el complejo C3bBb y estabilizarlo, es el único regulador positivo. <sup>(32,39)</sup>

**FIGURA N°8.** Activación de la Vía alternativa



**Fig.8** La vía alternativa se activa por la unión de C3b a distintas superficies activadoras, como las paredes de las células microbianas. Formación de la C3-convertasa y escisión de C3.

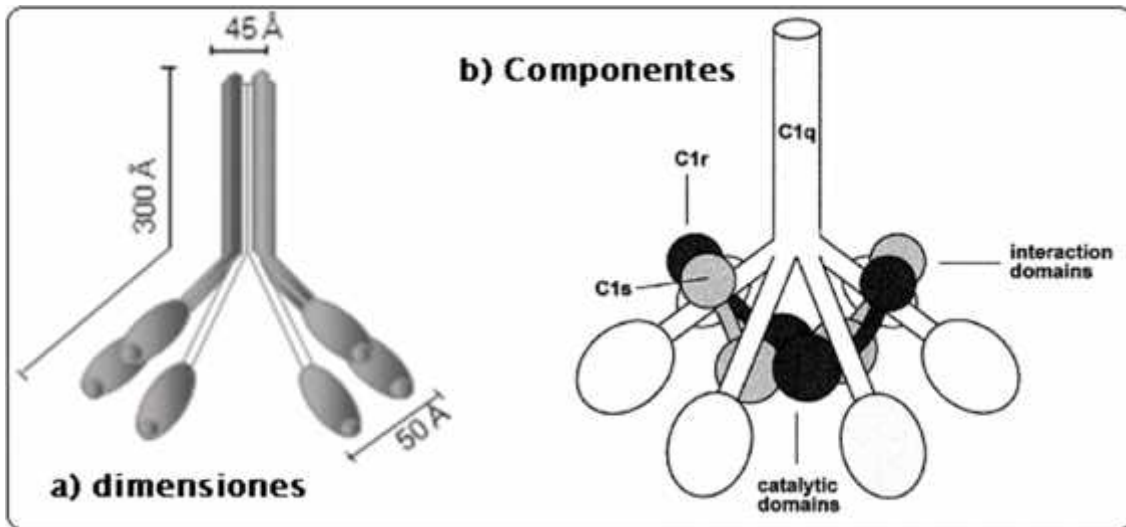
**Fuente:** GARCÍA Olivare E., A. Alonso et. Complemento

### 3. Vía clásica

La vía clásica se inicia mediante la unión de la proteína del complemento C1 al dominio CH2 de IgG o al CH3 de las moléculas de Ig M que se han unido a un antígeno. <sup>(14,15)</sup>

La molécula C1 es un complejo proteínico multimérico grande que está compuesto de las subunidades C1q, C1r y C1s: La subunidad C1q esta constituida por seis cadenas con una disposición radial en forma de paraguas, cada una de las cuales consta de una cabeza globular conectada a un tallo central por un brazo similar al colágeno. (Fig.8) <sup>(14,15)</sup>

**FIGURA Nº 9** Molécula de C1q



**Fig.9** Las cabezas globulares en los extremos se denominan H, son las regiones de contacto con las inmunoglobulinas. C1r y C1s forman un tetrámero compuesto de dos moléculas de C1r y dos de C1s, los extremos de éstos contienen las regiones catalíticas de estas proteínas.

**Fuente:** Journal of investigative dermatology. C1q

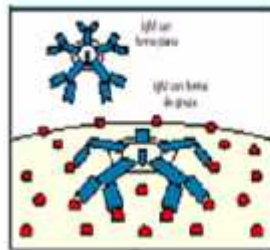
El complejo C1q es una proteína de 460 Kd, compuesta de 18 cadenas polipeptídicas (6A, 6B, 6C) cada una de 225 aminoácidos (AA) organizados en tripletes e interconectados por puentes disulfuro cada una de las cuales posee un extremo fibroso y otro globular denominado H por donde reconoce a la región constante de los anticuerpos. <sup>(14,15,32,39)</sup>

Un tetrámero C1r y C1s envuelve los brazos radiales de los complejos C1q de forma que se yuxtaponen a las regiones catalíticas de C1r y C1s. <sup>(14,15,32,39)</sup>

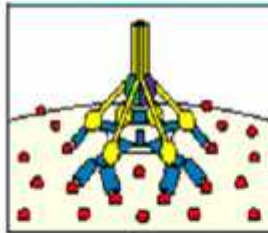
Los anticuerpos participantes pueden ser de tipo IgM (1 sola molécula) o IgG de las clases IgG1, IgG2 o IgG3 (en seres humanos) estos son los activadores más eficientes del complemento que las otras subclases, se necesitan al menos dos complejos Ag-Ac cercanos. <sup>(14,15,32,39)</sup>



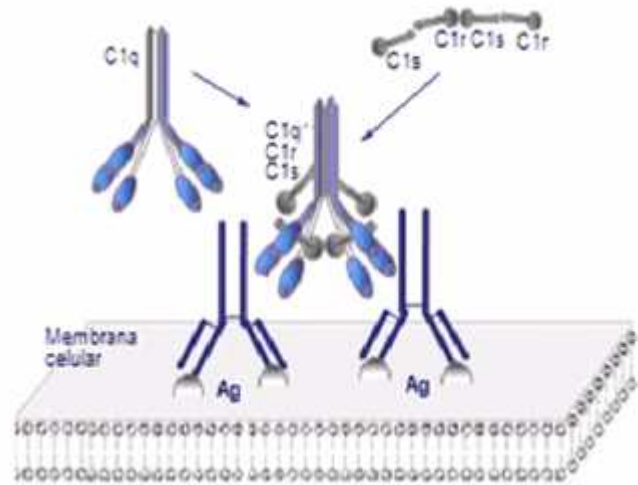
## FIGURA Nº 10 Unión de C1q al Fc de IgG y la membrana celular



**Fig.9a** Las moléculas de IgM pentamérica adoptan la forma de grapa al unirse a antígenos en la superficie bacteriana.



**Fig.9b** C1q se asocia a una molécula de IgM unida a una superficie bacteriana.



**Fig.9c** Unión de la unidad de C1q al Fc de las inmunoglobulinas, (por lo menos 2 anticuerpos cercanos) unidos a su vez a la membrana celular.

**Fuente:** GARCÍA Olivares E., A. Alonso, Complemento

Dado que cada molécula de IgG sólo tiene una región Fc, deben acercarse múltiples moléculas de IgG para que se pueda unir a C1q, y múltiples anticuerpos IgG quedan agrupados únicamente cuando se unen a un antígeno multivalente.

Aunque la IgM libre (circulante) es pentamérica, no se une a C1q, aparentemente porque las regiones Fc de la IgM libre son inaccesibles para el C1q. La unión de la IgM a un antígeno induce un cambio de conformación que expone los sitios de unión a C1q de las regiones Fc y permite a C1q unirse a la IgM. <sup>(14,15,32,39)</sup>

Por su estructura pentamérica, una sola molécula de IgM puede unirse a dos moléculas de C1q y esta es una de las razones por las que IgM es un anticuerpo de unión al complemento. <sup>(14,15,32,39)</sup> (Fig.9)

**TABLA Nº 3** Proteínas de la vía clásica del complemento

PROTEINA	ESTRUCTURA	CONCENTRACIÓN SÉRICA (ug/mL)	FUNCIÓN
<b>C1q (C1qr2s2)</b>	750 kD		Inicia la vía clásica
<b>C1q</b>	460 kD; hexámero de 3 pares de cadenas (22,23,24 kD)	<b>75 – 150</b>	Se une a la porción Fc del Ac que se ha unido al Ag, a las células apoptóticas y a superficies catiónicas.
<b>C1r</b>	Dímero 85 kD	<b>50</b>	Proteasa de serina, escinde C1s para convertirlo en una proteasa activa
<b>C1s</b>	Dímero 85 kD	<b>50</b>	Proteasa de serina, escinde C4 y C2
<b>C4</b>	210 kD, trímero de cadenas de 97, 75 y 33 kD	<b>300 – 600</b>	C4b se une covalentemente a la superficie de un microorganismo o de una célula, donde se une el Ac y se activa el complemento. C4b se une a C2 para conseguir su escisión por C1s. C4a estimula la inflamación (anafilotoxina)
<b>C2</b>	Monómero de 1202 kD	<b>20</b>	C2a es una proteína de serina y actúa como la enzima activa de las C3 y C5-convertasas, para escindir C3 y C5.
<b>C3</b>	185 kD (subunidad-A 110 kD; subunidad-B, 75 kD)	<b>1000 -2000</b>	C3b se une a la superficie del microorganismo, donde actúa como opsonina y como componente de las C3 y C5-convertasas. C3a estimula la inflamación (anafilotoxina)

**FUENTE:** ABBAS L. Abul K. Sistema del complemento

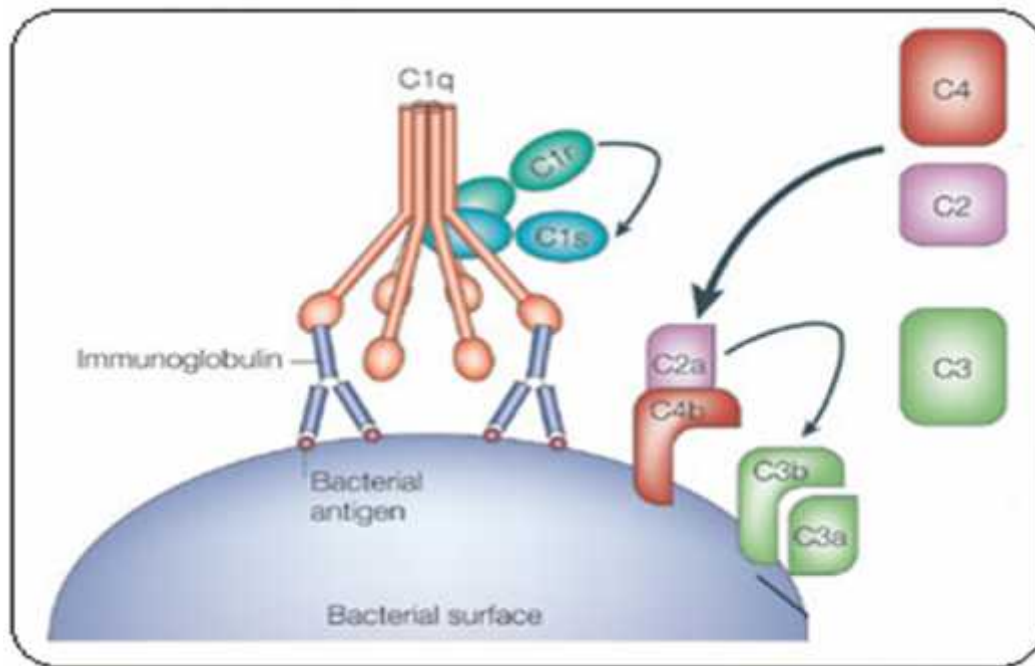
Este hexámero realiza la función de reconocimiento de la molécula y se une específicamente a las regiones Fc de las cadenas pesadas de Ig para activarse. La unión de la Inmunoglobulina al antígeno induce un cambio conformacional en los dominios de la región Fc que permite la unión del factor C1. <sup>(5)</sup>

Este requisito explica por qué pueden iniciar la vía clásica de activación de los anticuerpos unidos a los antígenos y no los que circulan libres. <sup>(14,15,32,39)</sup> (Tabla.3)

### a) Activación del factor C1

C1q se une a los anticuerpos y C1r y C1s son proteasas, que forman un tetrámero que contiene dos moléculas de cada una de ellas, la unión de dos o más cabezas globulares de C1q a las regiones Fc de una IgG o IgM provoca que una molécula de C1r del complejo C1qr2s2 pierda por autocatálisis un fragmento de bajo peso molecular, quedando activada. <sup>(39)</sup> Esta molécula activa a la otra molécula de C1r. Las dos moléculas de C1r atacan a las dos moléculas de C1s liberando sendos fragmentos de bajo peso molecular, dejando expuestos sus dominios catalíticos. La activación de C1 es  $\text{Ca}^{++}$  dependiente. <sup>(39)</sup> (Fig.11)

**Figura N° 11** Activación de la Vía Clásica del complemento



**Fig.11** Los complejos Ag-Ac que activan la vía clásica del complemento pueden estar solubles, unidos a las superficies celulares o depositados en matrices extracelulares. Esta vía se inicia con la unión de C1q a moléculas de complejos Ag-AC, lo que conduce a la producción de C3 convertasa y su respectiva escisión.

**Fuente:** GARCÍA Olivares E., A. Alonso, Complemento

De esta forma C1s se convierte en un enzima del tipo serin-proteasa cuyo substrato son los factores C4 y C2, produciendo su escisión en dos fragmentos, uno pequeño C4a que es una anafilotoxina de baja actividad y otro mayor C4b, que se une por

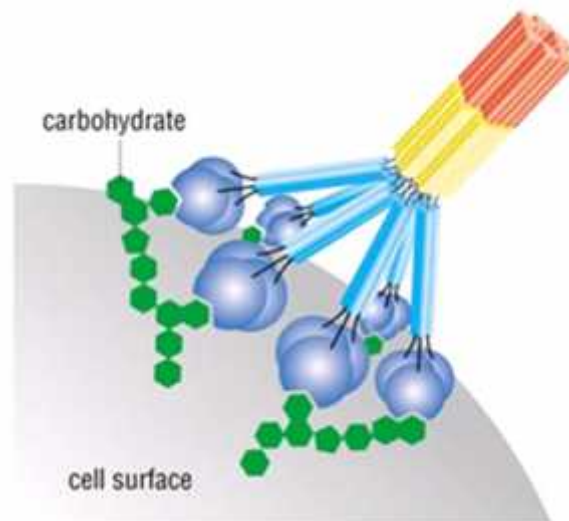
enlace covalente de tipo éster o amida a la superficie celular con vida media de milisegundos y esto representa un mecanismo de seguridad para que la reacción solamente progrese si se realiza sobre la superficie de un germen y otra célula. <sup>(39)</sup>

C1s también actúa sobre C2, provocando la escisión de esta molécula en dos fragmentos, uno pequeño C2b, sin actividad de anafilotoxina, y otro mayor C2a. Este último se une al C4b para formar sobre la superficie del germen el complejo C4b2a. Este complejo tiene actividad esterásica y su sustrato es el C3 por lo que a C4b2a se le llama convertasa C3 de la vía clásica. <sup>(39)</sup>

#### 4. Vía de las lectinas

Se activa en ausencia de Ac y puede poner en marcha incluso en individuos que no han sido previamente inmunizados. El extremo lectina reconoce la manosa en la superficie de los gérmenes y el extremo colágeno activa la cascada del complemento. <sup>(32,39)</sup> Su actividad biológica requiere al menos el grado de complejidad del tetrámero, que se parece a la molécula de C1q. <sup>(33)</sup> (Fig.12)

**FIGURA N° 12** Proteína fijadora de manosa

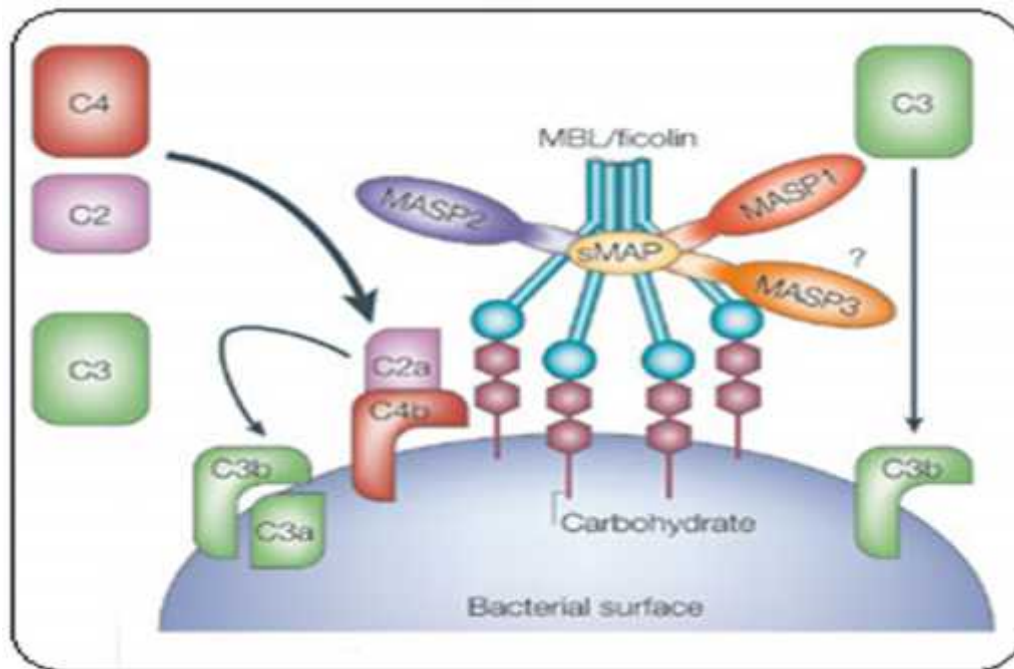


**Fig.12** C1q es remplazada por una proteína sérica de origen hepático de la familia de las colectinas llamada proteína fijadora de manosa (MBP, mannose-binding protein) que puede reconocer restos de manosa en los polisacáridos de membrana de una gran variedad de gérmenes (bacterias, hongos, protozoos y virus).

**Fuente:** DEFRANCO, Locksley and Robertson

La Proteína fijadora de manosa (MBP) se encuentra en suero asociada a una proteína con actividad enzimática parecida a C1s denominada MASP (MBP-associated binding protein, proteína asociada a MBP), que adquiere actividad enzimática cuando el extremo lectina de la MBP reconoce a la manosa sobre la superficie de gérmenes, activada escinde a C2 y C4 de forma similar a como lo hace C1s, progresando entonces la cascada del complemento de forma idéntica a cómo lo hace en la vía clásica. <sup>(4,14,15,32)</sup> (Fig.13)

**Figura N° 13** Activación de la vía de las Lectinas



**Fuente:** GARCÍA Olivares E., A. Alonso. Complemento.

## 5. Complejo de Ataque a la membrana (MAC)

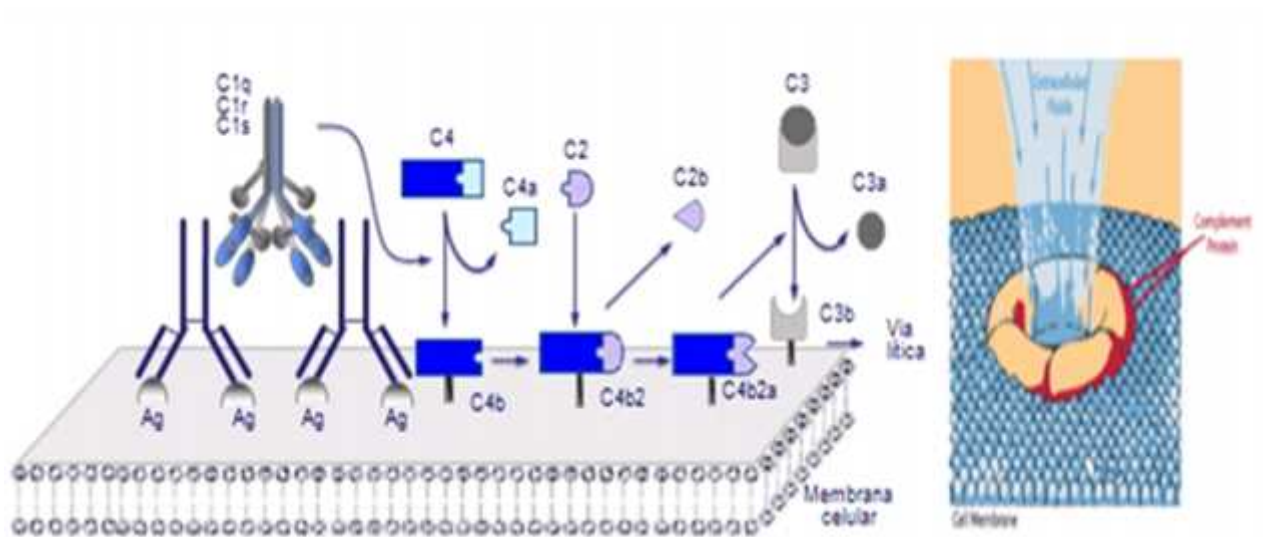
El objetivo de las tres vías de activación del Complemento es formar la C5 convertasa. Esta enzima hidroliza C5 en C5a, que difunde, y C5b que se une a la superficie de la célula blanco y sirve como sitio de unión obligatorio para miembros del complejo de ataque a membrana. <sup>(39)</sup> C6 se une a C5b para formar C5b6, que a su vez se une a C7. El complejo C5b67 se incrusta en la bicapa fosfolipídica de la célula blanco. Entonces viene C8 que se une al complejo para formar C5b678 que

crea un pequeño poro en la membrana. <sup>(39)</sup> El paso final en la formación del MAC es la unión de C9 al complejo C5b678 para formar poros grandes en la membrana de la célula blanco. El MAC tiene una forma tubular donde iones y pequeñas moléculas pueden difundir, llevando a la muerte de la célula por pérdida de agua <sup>(39)</sup> y electrolito.

El microorganismo opsonizado, e interiorizado es destruido por los fagocitos, siendo este el mecanismo de muerte más importante del complemento. <sup>(39)</sup>

La fagocitosis de células mediada por C3b ilustra mejor que ningún otro fenómeno el paralelismo de las vías alternativa y clásica del complemento. <sup>(15,39)</sup> (Fig.14)

**FIGURA Nº 14** Complejo de ataque a la membrana, Lisis celular



**Fuente:** GARCÍA Olivares E., A. Alonso. Complemento

## 6. Codificación genética de las fracciones del complemento

Las moléculas C2, C4 y el factor B (Bf) son codificadas por genes ubicados en el cromosoma 6, entre los loci HLA-B y HLA-DR. Los factores B y C2 son codificados por un solo locus y existen dos loci para C4, C4a y C4b. <sup>(14)</sup>

En el brazo corto del cromosoma 1 del hombre se localizan los genes que codifican las cadenas alfa y beta de C8 y de C1q. Los genes C6 y C7 (originados por duplicación) se encuentran en el cromosoma 5. <sup>(39)</sup>

#### IV. ANTECEDENTES

El año 2001 el Dr. A. López del Departamento de Pediatría y Patología indicó que todos los auto-anticuerpos presentes en el LES son importantes para su diagnóstico (especialmente el anti DNAs).<sup>(22)</sup> Pero que en la actualidad se ha detectado una elevación en el título del anticuerpo anti-C1q de éstos pacientes, y es de importancia ya que se correlaciona muy bien con actividad renal.<sup>(22)</sup> Victoria Werth MD de la Universidad de Pensilvania en el mismo año indica que se han descrito deficiencias del complemento en pacientes con lupus como el C1, C1q, C2, C4 y por este motivo se pueda dar el desarrollo y la gravedad de la enfermedad al no poder eliminar la presencia de inmunocomplejos y que la disminución de C1q puede estar asociado a un mal pronóstico de nefropatía.<sup>(18)</sup>

El Dr. Miguel Reyes del servicio de Nefrología del Instituto Mexicano del Seguro Social corrobora esta información con un estudio realizado el año 2004 en el cual los resultados demuestran la presencia de valores elevados del anticuerpo anti C1q los cuales se encuentra con mayor frecuencia en pacientes con nefritis lúpica,<sup>(41)</sup> Por otro lado el Dr. Abdías Hurtado encuentra la correlación que existe entre la presencia de valores elevados del anticuerpo anti-C1q con la actividad renal en pacientes con LES<sup>(40)</sup> y lo publica en el 2do Congreso Internacional de Nefrología el 2005. E indica que no todos los pacientes con los patrones serológicos tienen enfermedad activa, y que esto no necesariamente predice la exacerbación de la enfermedad.

Según Cameron JS, 1999, Flierman y Daha 2007, Mortensen et. al. 2008 indican que los autoanticuerpos anti C1q son considerados incluso factores patogénicos en la generación de las lesiones renales.<sup>(3)</sup>

El director Dr. Raúl Plata Cornejo del Instituto Boliviano de Nefrología de la ciudad de La Paz el año 2005, explico que el diagnóstico y las curaciones de enfermos renales terminales, son inalcanzables para la gran mayoría de la población y por ello muchas personas enferman de daño renal crónico y muy pocos reciben tratamiento de diálisis. Según datos estadísticos de dicha institución encontraron un alto porcentaje de afección en el género femenino las cuales estaban comprendidas entre las edades de 30 a 50 años.<sup>(45)</sup>

Según el Dr. Rolando Troche presidente de la Sociedad Boliviana de Reumatología (SBR) el año 2009 indica que la AR es una enfermedad que afecta más a mujeres con una relación de 3 veces más respecto a varones, sin embargo la que más afecta a en Bolivia y el mundo es la artritis de tipo inflamatorio que esta ligado a defectos inmunológicos, como: artritis reumatoide, osteoartrosis y el lupus eritematoso sistémico (9/1 mujer, varón respectivamente) el cual ocasiona grandes deformidades, pero que con un diagnostico temprano dentro de los 2 primeros años esto se podría evitar. El Dr. Raúl Plata correlaciona esta información con respecto a pacientes con artritis e indica que en pacientes con LES la nefritis lúpica se da en un 40 – 75% de los pacientes dentro de los primeros 5 años de iniciada la enfermedad. (27,29)



## V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Lupus eritematoso sistémico es una enfermedad bastante frecuente y su prevalencia en la población general se encuentra entre 4 y 250 casos por cada 100.000 habitantes, sin embargo esta relación puede variar, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y puede alcanzar de 1 por cada 2000 personas, según estadísticas oficiales. <sup>(5,12)</sup>

La prevalencia de la artritis reumatoide es aproximadamente del 1% de la población y oscila entre el 0.3 y el 2.1%, las mujeres se afectan aproximadamente con una frecuencia tres veces mayor a la de los varones. <sup>(30)</sup>

Cada año, un promedio de 800 personas, entre niños, jóvenes, adultos y ancianos, enferman de daño renal crónico y sólo 50 de ellos reciben un tratamiento de diálisis. La mayoría de esos enfermos muere sin recibir tratamiento médico, revela un informe del Instituto Boliviano de Nefrología de la ciudad de La Paz. <sup>(41)</sup> Éste instituto realizó su 8va campaña el año 2004 de “Educación, Prevención y Tratamiento de las Enfermedades del Riñón” en el periodo de febrero a julio del 2004, en una población de 1000 pacientes donde el 29.5% (295 pacientes) presenta enfermedad renal y de vías urinarias, de las cuales las enfermedades más comunes diagnosticadas fueron la infección del tracto urinario, poliglobulia (eritrocitosis) y proteinuria, hipertensión arterial sistémica, litiasis renal, nefropatía diabética, **nefropatía lúpica**, tuberculosis renal e insuficiencia renal crónica <sup>(41)</sup>

El problema de estos pacientes es que no se llega a detectar oportunamente la enfermedad debido a que las manifestaciones clínicas leves en un comienzo e inespecífico, pasa de una enfermedad relativamente benigna a una progresiva falla fulminante de órganos y posterior muerte. <sup>(18)</sup>

**Actualmente no se dispone de marcadores laboratoriales accesibles que coadyuven a un diagnóstico temprano de la enfermedad y su posterior seguimiento.**

## VI. JUSTIFICACIÓN

En Bolivia la frecuencia de LES es 9/1 y AR es 3/1 (relación mujer –varón) con una edad promedio entre los 15 a 65 años, considerando que la Nefritis Lúpica llega a ocurrir en un 40 – 75 % de los pacientes especialmente con LES, dentro de los primeros 5 años de iniciada la enfermedad, es de gran interés el poder evitar el daño con un diagnóstico temprano y un seguimiento efectivo. <sup>(27,29,41)</sup> Estudios realizados en el instituto SELADIS en el año 2006 demostraron que el 85% de los pacientes que acuden a dicha institución con diagnóstico de LES son mujeres y que en un 80% estuvieron comprendidos entre las edades de 15-56 años. <sup>(12)</sup>

Tenemos entendido que los pacientes con diagnóstico de LES cursan periodos de remisiones y períodos de exacerbación y en cualquier momento de su vida pueden presentar daño renal crónico, produciéndose como consecuencia la pérdida funcional total del riñón, la cual es la principal causa de muerte. Esta afección puede ser provocado por la acumulación de niveles excesivos de inmunocomplejos circulantes que no son eliminados adecuadamente por lo tanto se depositan en la membrana basal de los glomérulos. <sup>(9,12)</sup> Por otro lado en los pacientes con AR, debemos considerar, que los capilares de las membranas sinoviales son vasos a través de los cuales se producen un ultrafiltrado del plasma donde existe una presión hidrostática elevada, lo que explicaría que esas sean las localizaciones más frecuentes de depósito de inmunocomplejos, ocasionando activación del complemento e inflamación. <sup>(2,5,9)</sup>

La determinación de anticuerpos anti C1q, ha sido propuesto como un marcador en el LES ya que su aparición fue correlacionada con lesión renal y con posible actividad de nefritis. Más aún, si esta presencia esta acompañada con disminución de la fracción C1q (antígeno) ya que se asociaría a un mal pronóstico <sup>(27,29,41)</sup> de Nefropatía. Por ello proponemos, un método que nos ayude a determinar este marcador (Ac anti-C1q), mediante la técnica del Inmunoensayo absorbente unido a enzima (ELISA) ya que ésta presenta muchas ventajas, entre ellas; es una técnica no invasiva, sencilla de realizar y de mayor reproducibilidad. De forma paralela cuantificaremos las concentraciones de C1q utilizando la técnica de Inmunodifusión Radial (IDR), por ser sencilla de realizar y necesita poca cantidad de muestra.

## VII. DISEÑO METODOLOGICO

**A.- TIPO DE DISEÑO:** Test diagnóstico

**B.- TIPO DE ESTUDIO:** Piloto experimental – descriptivo

**C.- POBLACION EN ESTUDIO:** Se estudiaron 49 muestras provenientes de pacientes con diagnostico presuntivo de LES, AR y pacientes aparentemente sanos. Las muestras (remanentes de suero), se obtuvieron revisando los registros de los pacientes que acudieron a las unidades de INMUNOLOGIA, HISTOCOMPATIBILIDAD E INMUNOGENETICA (HLA) del Instituto SELADIS el año 2009.

### 1. Criterios de inclusión:

a) Pacientes con diagnostico presuntivo de Lupus Eritematoso Sistémico.

- ❖ Si son positivos para LES: Mayores a 45.3 UI/mL para anti-DNAs y un titulo mayor o igual a 1/160 para ANA (IFI).<sup>1</sup>
- ❖ Si son negativos para LES: Menores a 38.7 UI/mL para anti-DNAs y un titulo menor a 1/160 para ANA (IFI).

b) Pacientes con diagnostico presuntivo de Artritis Reumatoide.

- ❖ Si son positivos para AR: Mayor a 25 U/mL para anti-CCP, valor mayor a 12UI/mL para FR y un valor mayor 0.65 mg/dL para PCR.
- ❖ Si son negativos para AR: Valores hasta 25U/mL, valor hasta 12 UI/mL para FR y valor hasta 0.65 mg/dL para PCR.<sup>2</sup>

c) Pacientes de ambos sexos comprendidos entre los 15 a 65 años.

d) Pacientes aparentemente sanos sin descartar alguna enfermedad.

---

<sup>1</sup> Valores de referencia de la unidad de Histocompatibilidad e Inmunogenética (HLA-Instituto SELADIS). Se debe aclarar que para nuestro estudio un título menor a 1/160 fue considerado como no reactivo, sin embargo para el laboratorio (HLA) un título de 1/40 es considerado reactivo.

<sup>2</sup> Valores de referencia de la Unidad de Inmunología (Instituto SELADIS)

## 2. Criterios de exclusión:

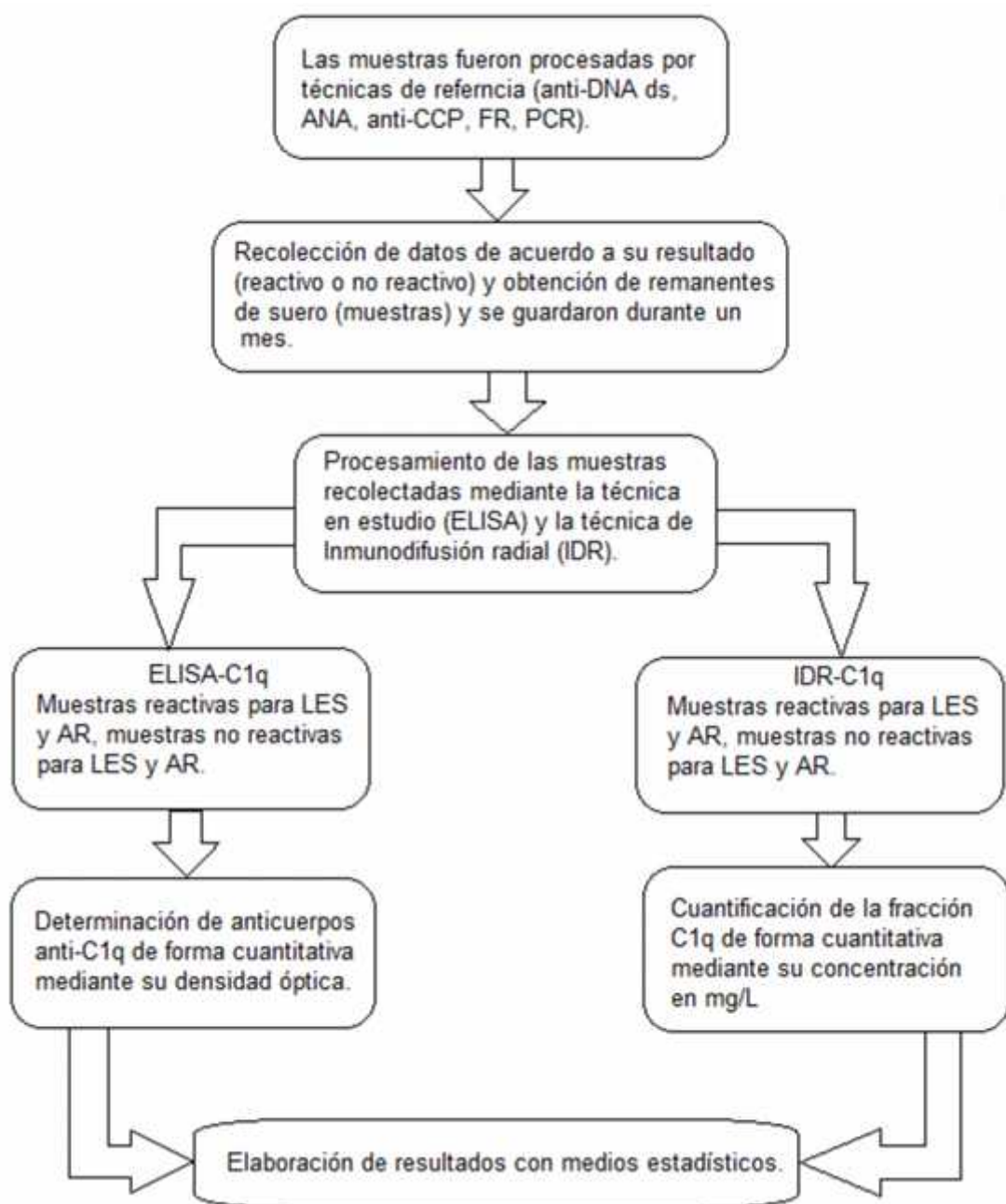
- a) Pacientes con otro tipo de enfermedad inflamatoria.
- b) Pacientes con otro tipo de enfermedad autoinmune.
- c) Pacientes en estado de gestación.

Los medios estadísticos usados para obtener los resultados son las medidas de tendencia central: promedio, desviación estándar, rango y Coeficiente de correlación  $r$  de Spearman.

### D. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	DIMENSION	TIPO DE VARIABLE	CLASE	INDICADOR
<b>GENERO</b>	Categoría que se le asigna a un individuo según al sexo al que pertenece	Morfológica	Nominal	Masculino Femenino	Porcentaje
<b>EDAD</b>	Medida del tiempo de existencia de una persona	Cronológica	Intervalo	Años	[15-25> [25-35> [35-45> [45-55> [55-65]
<b>Ag -C1q</b>	Subcomponente del sistema del complemento de la vía clásica.	Inmunológica	Cuantitativa continua	Concentración	mg/L
<b>Ac -C1q</b>	Anticuerpo presente en el suero o plasma del paciente	Inmunológica	Cuantitativa continua	Densidad Óptica	Absorvancia

## E. MODELO TEÓRICO



## VIII. HIPÓTESIS

Los datos hallados sobre los niveles elevados del anticuerpo anti C1q correlacionarán con la gravedad de la enfermedad por lo que la prueba planteada será útil en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades en estudio.

## **IX. OBJETIVOS**

### **A. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la presencia de Anticuerpos anti – C1q y cuantificar la fracción C1q para el apoyo al diagnóstico y seguimiento de Lupus Eritematoso Sistémico y Artritis Reumatoide.

### **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

1. Realizar la estandarización de la técnica ELISA-C1q mediante la titulación de sus componentes (anticuerpo y antígeno).
2. Determinar el punto de corte o cut-off de la técnica ELISA-C1q.
3. Determinar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la técnica ELISA-C1q.
4. Cuantificar la concentración de la fracción C1q mediante la técnica de Inmunodifusión radial (IDR) para establecer los rangos de referencia en nuestra población.
5. Identificar la correlación existente entre los niveles de anticuerpos anti– C1q con la concentración de la Fracción C1q.

## **X. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **A. MATERIAL**

#### **1. Insumos:**

- ✓ Antígeno: C1q purificado (kit comercial HUMAN)
- ✓ Anticuerpo: Muestras biológicas de pacientes (suero)
- ✓ Conjugado: Antiinmunoglobulinas marcadas con peroxidasa (Sigma)
- ✓ Neutralizante: Leche descremada al 5 % (Morinaga)
- ✓ Sustrato: orto - fenil diamina (Aldrich)
- ✓ Solución de parada: Acido sulfúrico 2N
- ✓ Solución de lavado: PBS tween 0,1 M, pH=7.4
- ✓ Placas de inmunodifusión radial (HUMAN)
- ✓ Estándares de referencia para IDR (HUMAN)

### **B. MÉTODOS**

#### **1.- Técnica Inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) <sup>(41)</sup>**

##### **a) Determinación de anticuerpo anti C1q mediante la técnica ELISA**

Esta técnica se basa, en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática.

Al estar uno de los componentes marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte, la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmobilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro. <sup>(25)</sup> (TABLA 4).

🌈 Para la Titulación de la técnica ELISA - C1q se utilizaron:

❖ Como **controles positivos**:

Muestras de suero provenientes de pacientes con diagnóstico de LES (+) los cuales se encontraban entre 104.5 a 190.2 UI/mL confirmado con la técnica ELISA para anticuerpo anti-DNAs, que acudieron al Instituto SELADIS en la gestión 2009.

❖ Como **controles negativos**:

Muestras de suero provenientes de pacientes aparentemente sanos que acudieron al Instituto SELADIS en la gestión 2009, sin descartar enfermedad alguna y muestras de pacientes con diagnóstico de LES (-) que se encontraba entre 26.6 a 33.3 UI/mL y confirmado con la técnica anteriormente descrita para el mismo caso.

❖ Para tapizar la placa de ELISA <sup>3</sup>

Se utilizó el antígeno de un Kit comercial (HUMAN) el cual fue alicuotado en fracciones a partir de la concentración madre (10 mg/mL)<sup>4</sup> dilución 1/10 en tubos eppendorf y guardado a refrigeración con una temperatura de - 4 °C listo para su respectivo uso.

❖ El conjugado a título 1/10000.<sup>5</sup>

❖ Se realizó un control de calidad interno para ambas técnicas (ELISA e IDR) mediante la corrida de una misma muestra en cada ensayo, obteniendo de esta manera valores próximos entre sí.

---

<sup>3</sup> Para Tapizar las placas se utilizó leche descremada al 5% diluida con PBS 0.1M, pH=7.4

<sup>4</sup> El antígeno ya estaba diluido con su buffer.

<sup>5</sup> La titulación del conjugado se realizó en otro trabajo con anterioridad y fue realizado por la Universitaria Sandra Rodríguez en la tesina para optar el título de licenciatura en bioquímica del año 2003.



## Pasos generales de la técnica ELISA.

### 1.- Sensibilización (HUMAN ITC 59033)

- Añadir 100 uL de Antígeno C1q<sup>6</sup> a cada pocillo.
- Incubar por 30 minutos a 37 °C.
- Lavar con 150 uL de PBS 0.1M pH=7.4.



### 2.- Neutralización (Morinaga)

- Agregar 200 uL de leche descremada al 5%.
- Incubar 1 hora a temperatura ambiente (18°C a 25°C).
- Lavar con 150 uL de PBS tween 0.1M pH=7.4.



### 3.- Unión antígeno – anticuerpo (Suero)

- Añadir 100 uL de Muestra<sup>7</sup> diluida (1/100) a cada pocillo.
- Incubar por 30 minutos a 37 °C.
- Lavar con 150 uL de PBS tween 0.1M pH=7.4.

### 4.- Adición de Conjugado (SIGMA 5002)

- Añadir 100 uL de conjugado<sup>8</sup> diluido (1/1000).
- Incubar 1 hora a 37 °C.
- Pasado el tiempo desechar.
- Lavar con 150 uL de PBS tween (3 veces).



### 5.- Adición de Sustrato (ALDRICH-ICN)

- Añadir 100 uL de sustrato (1/1000).
- Incubar 5 minutos a temperatura ambiente (18-25°C).

### 7.- Adición de Solución de parada

- Añadir 50 uL de ácido sulfúrico 2 N. a los 5 minutos de incubación con el sustrato.

### 8.- Lectura - Leer todos los pozos a una longitud de 492 – 630 nm



<sup>6</sup> El antígeno fue diluido con buffer carbonato - bicarbonato

<sup>7</sup> Las muestras fueron diluidas con PBS-tween (C=0.1M,pH=7.4)

<sup>8</sup> El conjugado fue diluido con PBS-tween (C=0.1M,pH=7.4)

Se utilizaron microplacas de poliestireno ELISA transparente con base en forma de “U”. (Fig.15) de 96 pocillos. Realizando la lectura de las densidades ópticas de las respectivas muestras en un equipo automatizado para placas ELISA de la marca AWARENESS TECHNOLOGY, a una longitud de onda de 496 nm a 630 nm, ya que a esta longitud se puede leer el color amarillo de la reacción.

**Figura N°15** Lector de ELISA y microplacas de poliestireno de 96 pocillos



**FUENTE:** Laboratorio de Inmunología (SELADIS)

En cuanto a la titulación de los componentes de la técnica, se utilizaron diluciones sucesivas tanto del antígeno como del suero, describiéndolo de la siguiente manera:

- ❖ Las concentraciones del antígeno son: 10.0 / 5.0 / 1.0 / 0.1 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
- ❖ Las diluciones del suero fueron 1/10; 1/50; 1/100; 1/500
- ❖ Dilución del conjugado: 1/10000.

Una vez establecidas las concentraciones optimas, tanto del antígeno como de anticuerpo se procedió a correr la prueba con las muestras recolectadas de los grupos de pacientes con LES y AR. Para estandarizar la técnica ELISA, donde los datos obtenidos nos ayudaran a encontrar el punto de corte o cut – off de la técnica.

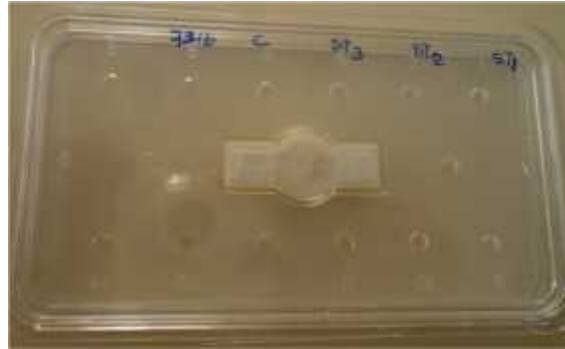
## **2.- Técnica Inmunodifusión Radial (IDR) <sup>(42)</sup>**

- a) Cuantificación del antígeno C1q mediante la técnica de IDR en placa.

La técnica de Inmunodifusión radial se basa en las reacciones que se producen en medio semisólido. El método implica la difusión radial del antígeno desde un pocillo

cilíndrico a través de un gel de agarosa conteniendo un anticuerpo monoespecífico adecuado. Se forman los complejos Ag – Ac los cuales bajo condiciones correctas, formaran un aro de precipitado (Fig.16). El tamaño de aro crece hasta alcanzar el equilibrio entre la formación y desaparición de tales complejos, este punto se llama “conclusión”.

**Figura N°16** Placa de Inmunodifusión Radial



Una vez realizada la siembra de las muestras en los pocillos a las 48 horas de incubación y a temperatura de 25 °C (ambiente), se procedió a la medición del diámetro de los halos, obteniendo los resultados en mm<sup>2</sup>, los cuales mediante el cálculo de regresión lineal se construyó una gráfica con las concentraciones de los estándares e interpolándolo en la recta se determinaron las respectivas concentraciones de las muestras y así convertir éstas unidades en mg / L.

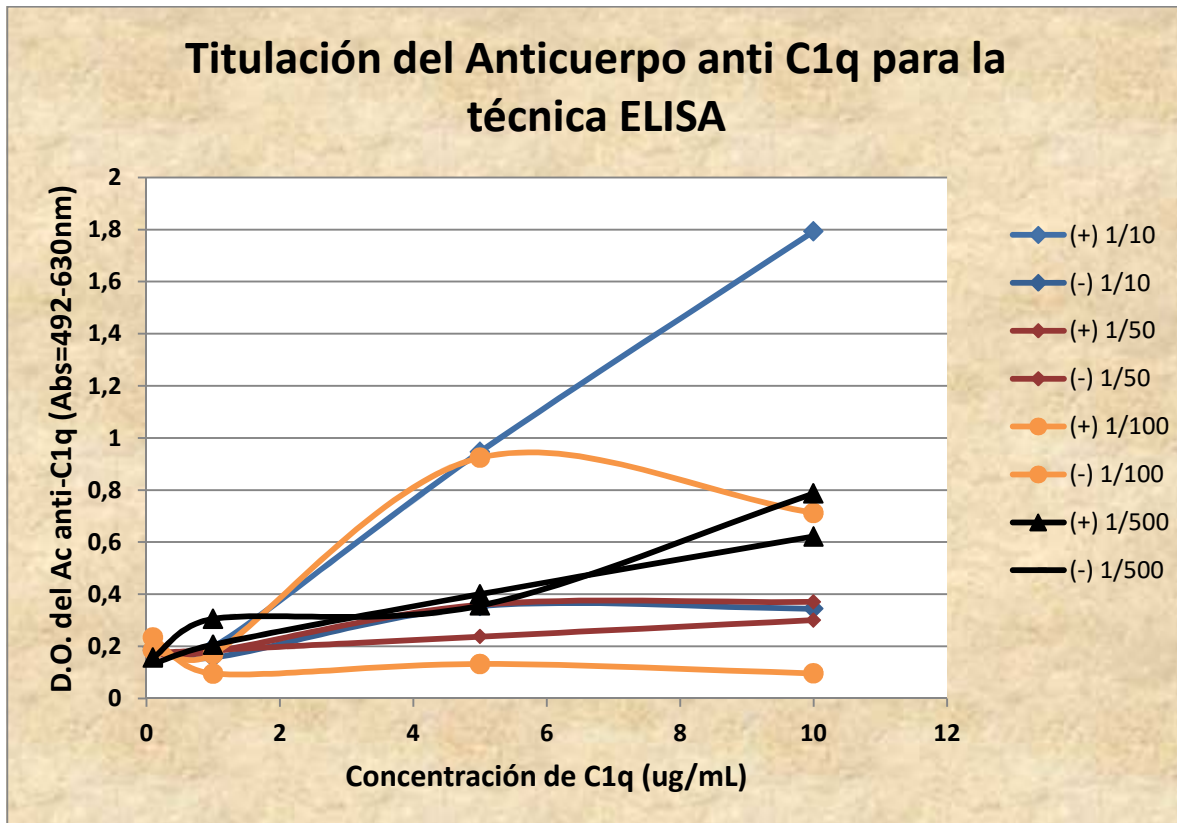
Con las concentraciones halladas se procedió a la construcción de la gráfica de dispersión para hallar el rango de normalidad de las muestras y la respectiva correlación que existe entre el Anticuerpo anti C1q y el C1q. Los medios estadísticos usados para obtener los resultados son las medidas de tendencia central: promedio, desviación estándar y rango.

## **XI. RESULTADOS**

Con el fin de cumplir con los objetivos planteados el primer paso a seguir fue titular los reactivos a utilizar en la técnica ELISA, para la evaluación de anticuerpos anti-C1q. En este sentido utilizamos muestras biológicas (suero) de pacientes con diagnóstico de LES y AR. En el primer caso tenemos que:

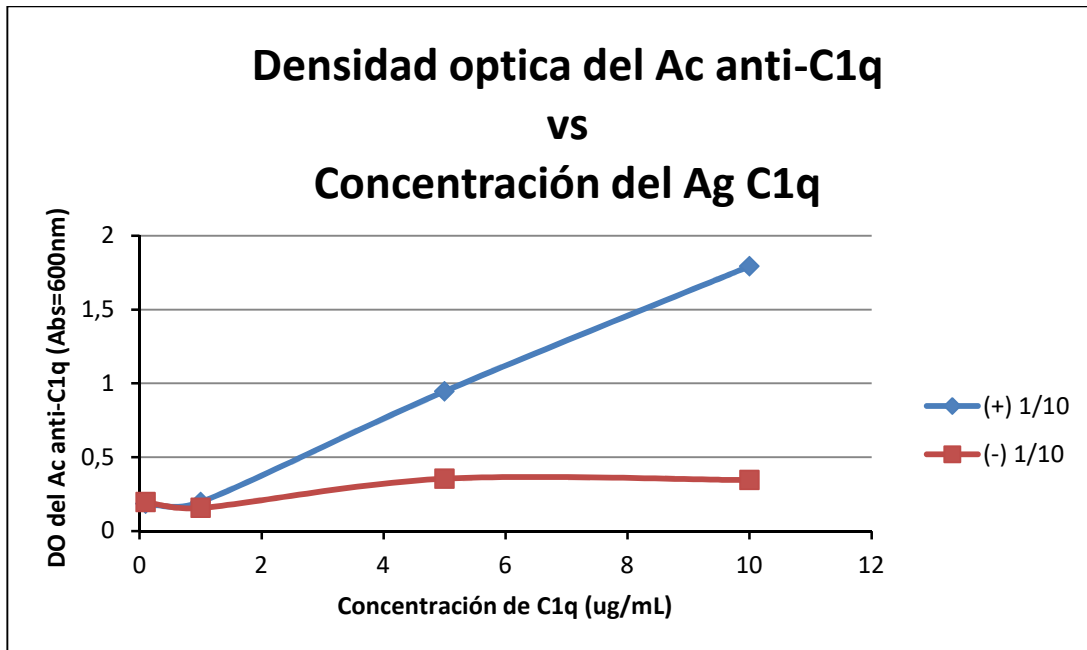
La titulación de la fracción C1q y de los anticuerpos anti-C1q nos estableció que la concentración óptima de uso del C1q es de 5 ug/mL. En cuanto a las muestras (en las cuales podrían presentar anticuerpos anti C1q) deberían ser utilizadas a una dilución de 1/100 (fig. 1-5). Esto se resume en la figura N°17 y tabla N°5

**FIGURA N°17.** Titulación del Anticuerpo Anti – C1q para la Técnica ELISA

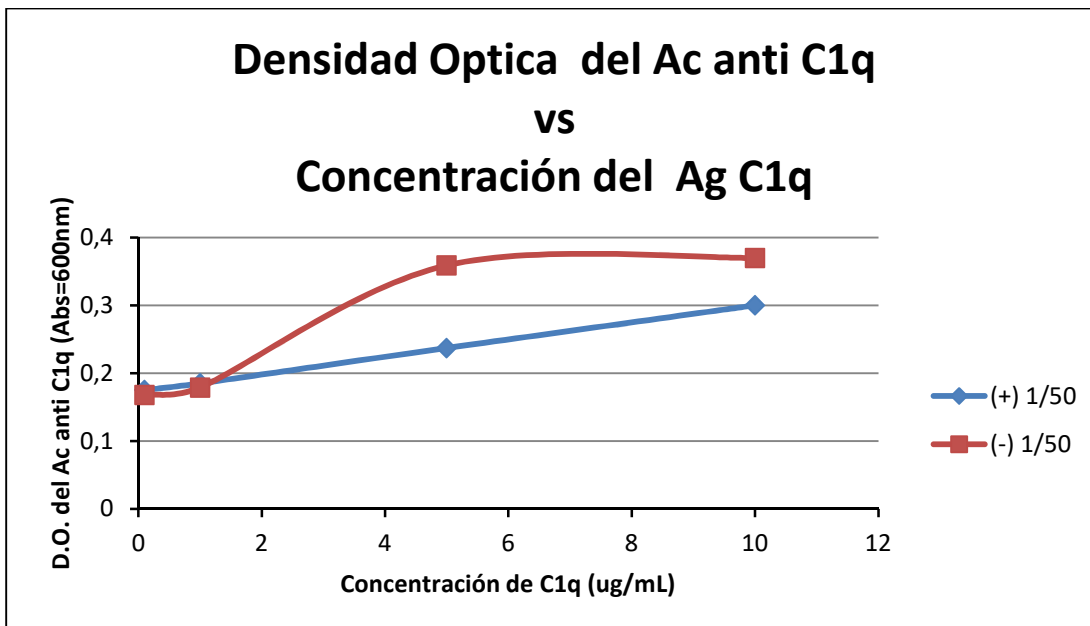


**Fig.17** Se puede observar las diferentes curvas de titulación de las respectivas diluciones, tanto para el antígeno como para el anticuerpo. Las diluciones de las muestras de suero corresponden a pacientes con resultado positivo y negativo para el anticuerpo anti DNAs, donde también se incluyeron muestras de suero de pacientes aparentemente sanos como muestras negativas.

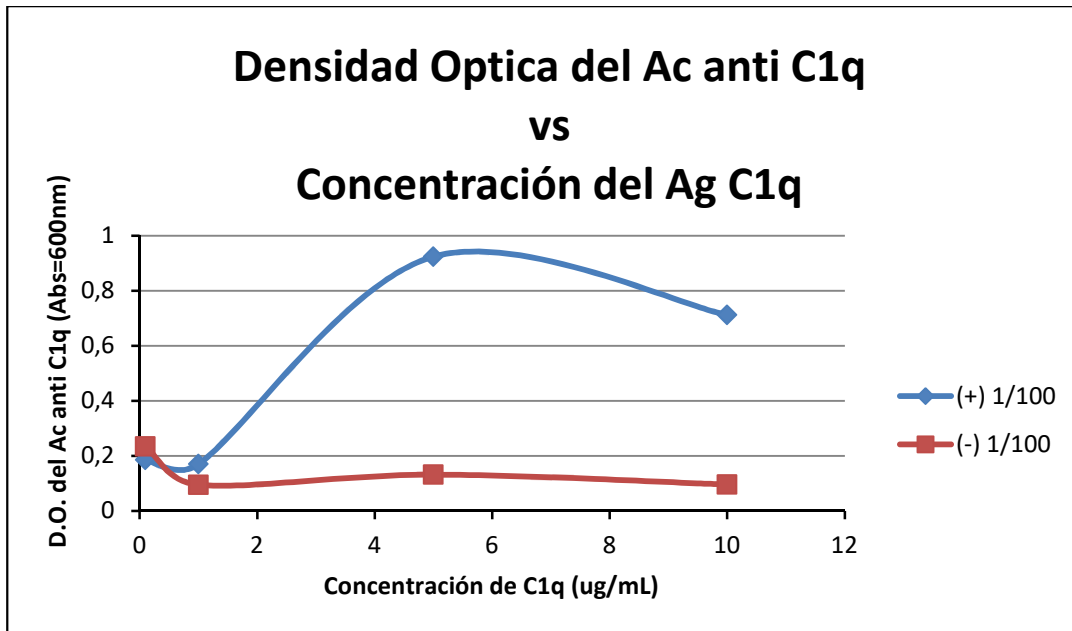
**FIGURA Nº 18** Titulación de la Técnica ELISA para el Anticuerpo Anti – C1q.  
Dilución de la muestra 1/10.



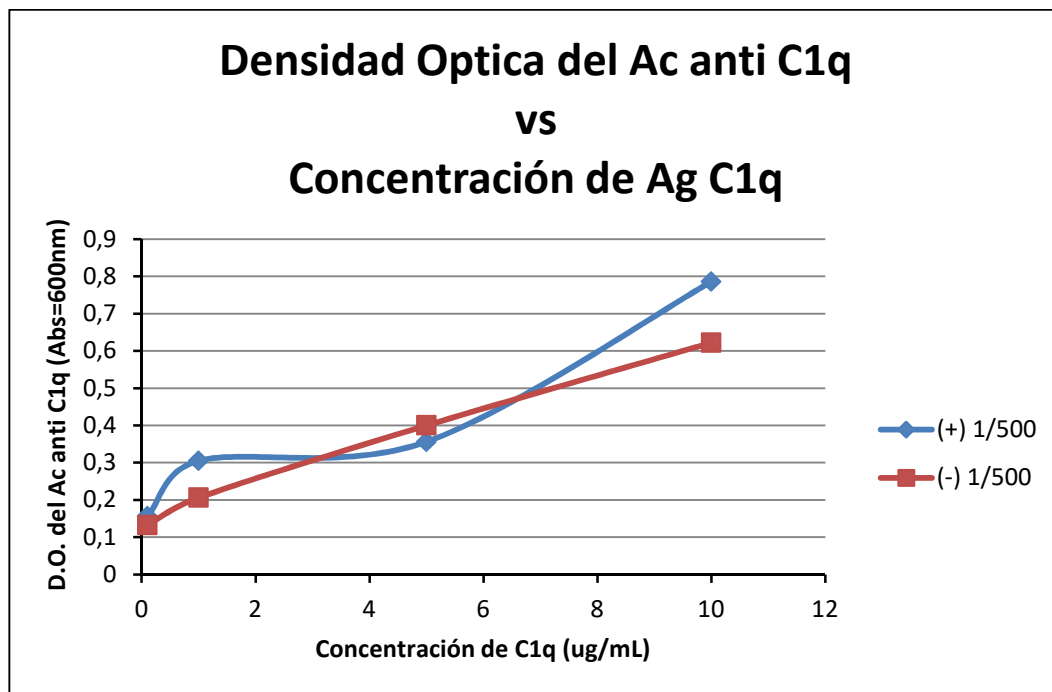
**FIGURA Nº 19** Titulación de la Técnica ELISA para el Anticuerpo Anti – C1q.  
Dilución de la muestra 1/50.



**FIGURA Nº 20** Titulación de la Técnica ELISA para el Anticuerpo Anti – C1q.  
Dilución de la muestra 1/100.<sup>9</sup>



**FIGURA Nº 21** Titulación de la Técnica ELISA para el Anticuerpo Anti – C1q.  
Dilución de la muestra 1/500.



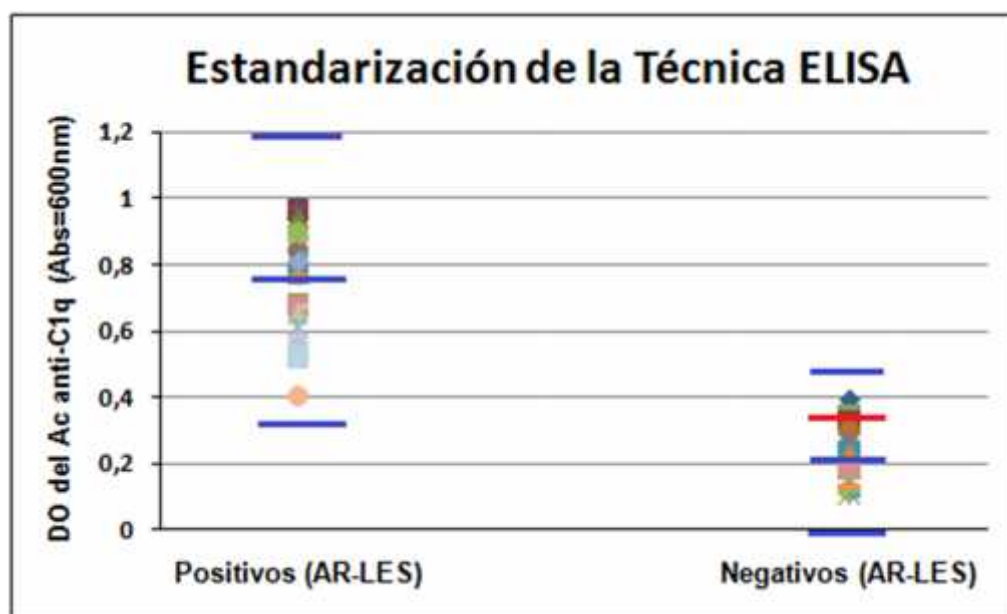
<sup>9</sup> Se realizó 4 ensayos para la titulación, de los cuales se presentan las gráficas más representativas.

**TABLA N°5** Concentraciones ideales, obtenidas en la titulación de la técnica ELISA

Valores óptimos	Concentración	Dilución
Antígeno	5 ug/mL	-----
Anticuerpo	-----	1/100
Conjugado	-----	1/10000

**Tabla N° 5** Se emplearon muestras de pacientes con LES positivos y negativos, previamente confirmados con anticuerpo anti-DNAs y muestras de pacientes aparentemente sanos, como muestras negativas.

**FIGURA N° 22.** Estandarización de la técnica ELISA para el anticuerpos anti – C1q en pacientes con diagnóstico de LES y AR.



**Fig.22** Se procesó un total de 49 muestras, entre ellas tenemos 19 positivas para LES y 10 eran negativas, 10 con diagnóstico de AR (+) y otras 10 que fueron negativas para AR. El punto de corte<sup>10</sup> de la prueba tiene un valor de **DO=0.327** ( $X^{11}= 0.227$   $DS^{12}=0.083$ ). Con el cual se considera que valores mayores al cut-off se encuentran fuera de rango y valores menores a un valor de **DO=0.310** son considerados como dentro del rango de normalidad. Tomando en cuenta que los

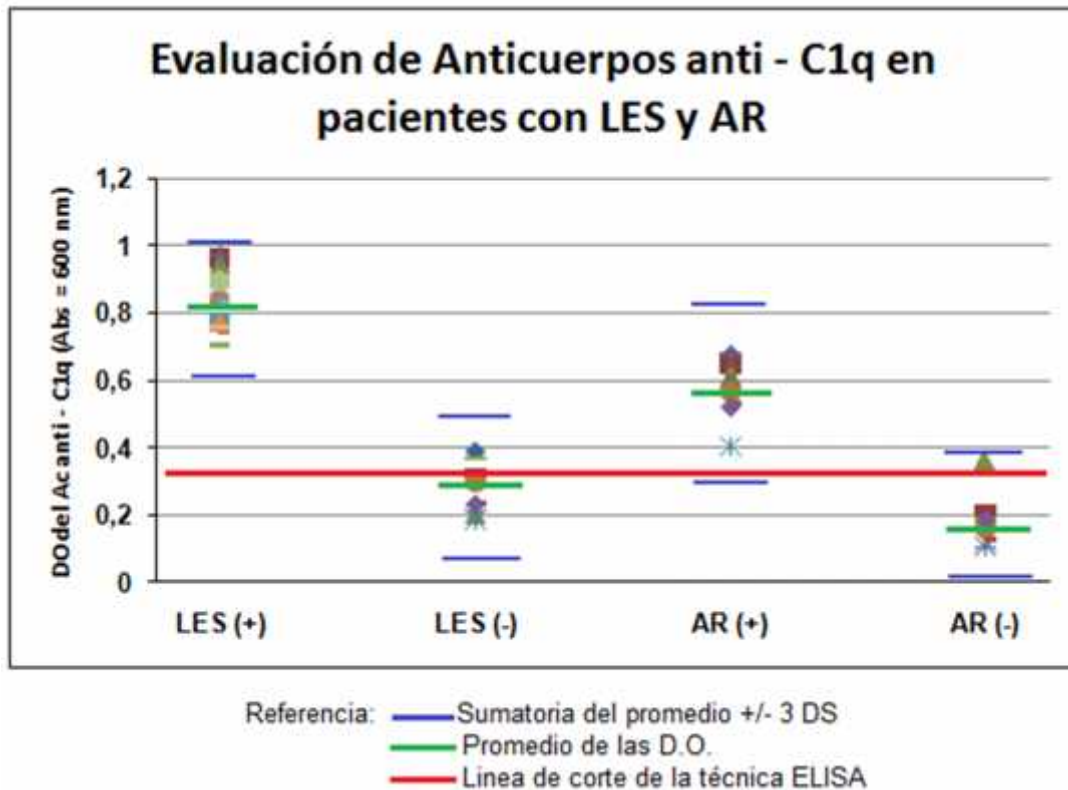
<sup>10</sup> El punto de corte se halló mediante la suma de 0.1 de forma aleatoria al promedio de valores negativos.

<sup>11</sup> Promedio = X

<sup>12</sup> Desviación estándar = DS

valores que se encuentren entre una  $DO=0.310$  y  $DO=0.327$  son considerados como dudosos. (Ver anexo N°3)

**FIGURA N°23** Evaluación de Ac anti-C1q en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) y Artritis Reumatoide (AR)



**Fig. 23** Se realizó la determinación de los niveles de anticuerpos anti-C1q en los dos grupos de pacientes en estudio (49 muestras), determinando de esta manera los promedios (X) y desviación estándar (DS) en donde para el subgrupo de LES positivos (19 muestras) tenemos un  $X=0.846$ ,  $DS=0.078$ ,  $+3DS=1.074$ ,  $-3DS=0.612$ , para el subgrupo de LES negativos (10 muestras) tenemos un  $X=0.280$ ,  $DS=0.071$ ,  $+3DS=0.493$ ,  $-3DS=0.067$ . En el caso de pacientes con AR estaba compuesto por AR positivas (10 muestras) con un  $X=0.581$ ,  $DS=0.079$ ,  $+3DS=0.818$ ,  $-3DS=0.344$  y el subgrupo de AR negativas (10 muestras) tenemos un  $X=0.173$ ,  $DS=0.066$ ,  $+3DS=0.338$ ,  $-3DS=0.008$ . Para evaluar la prueba estandarizada, se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos tanto positivos como negativos de la técnica, obteniendo los siguientes resultados, en forma global (tabla N°6) como en forma separada distinguiéndolo por grupos (tabla N° 7 y 8).



**TABLA N° 6** Determinación de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la Técnica ELISA C1q en los dos grupos en estudio (LES y AR). (Ver anexo N° 4)

	<b>Pacientes con Diagnóstico presuntivo de LES. Procesados por las técnicas de referencia: Ac anti DNAds, ANA, Ac anti CCp, PCR y FR</b>			
<b>Muestras procesadas por la técnica ELISA-C1q</b>		<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>TOTAL</b>
	<b>POSITIVO</b>	29	3	32
	<b>NEGATIVO</b>	0	17	17
	<b>TOTAL</b>	29	20	<b>49</b>

Sensibilidad = 100 %      VPP<sup>13</sup> = 91 %

Especificidad = 85 %      VPN<sup>14</sup> = 100 %

**TABLA N° 7** Determinación de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la técnica ELISA C1q en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico.

	<b>Pacientes con diagnóstico presuntivo de lupus eritematoso sistémico. Procesados por las técnicas de anti-DNAds y ANA</b>			
<b>Muestras procesadas por la técnica ELISA-C1q</b>		<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>TOTAL</b>
	<b>POSITIVO</b>	19	2	21
	<b>NEGATIVO</b>	0	8	8
	<b>TOTAL</b>	19	10	<b>29</b>

Sensibilidad = 100 %      VPP = 90 %

Especificidad = 80 %      VPN = 100 %

**Tabla N° 8** Determinación de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la técnica ELISA C1q en pacientes con Artritis Reumatoide.

	<b>Pacientes con diagnóstico presuntivo de artritis reumatoide. Procesados por las técnicas de anti-CCP, FR, PCR.</b>			
<b>Muestras procesadas por la técnica ELISA-C1q</b>		<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>TOTAL</b>
	<b>POSITIVO</b>	10	1	11
	<b>NEGATIVO</b>	0	9	9
	<b>TOTAL</b>	10	10	<b>20</b>

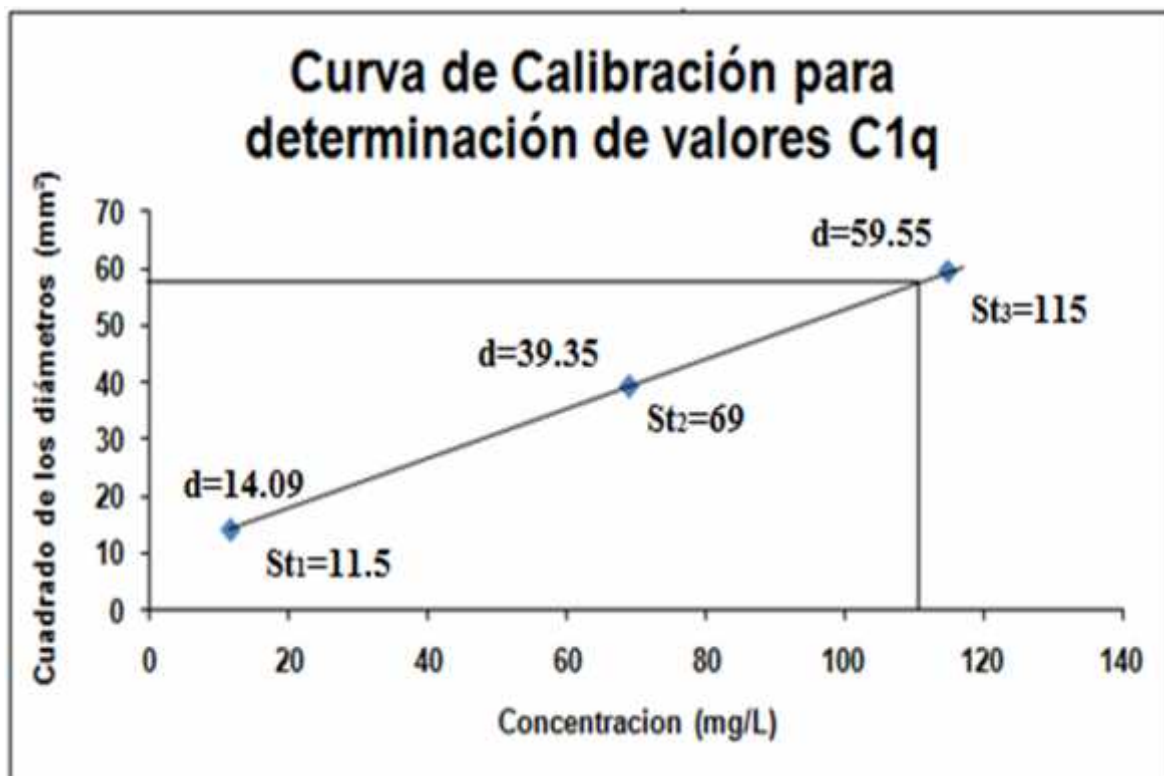
Sensibilidad = 100 %      VPP = 91 %

Especificidad = 90 %      VPN = 100 %

<sup>13</sup> VPP = Valor predictivo positivo

<sup>14</sup> VPN = valor predictivo negativo

**FIGURA Nº 24** Curva de calibración para determinación de valores de C1q en pacientes con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico y Artritis Reumatoide por Inmunodifusión Radial.



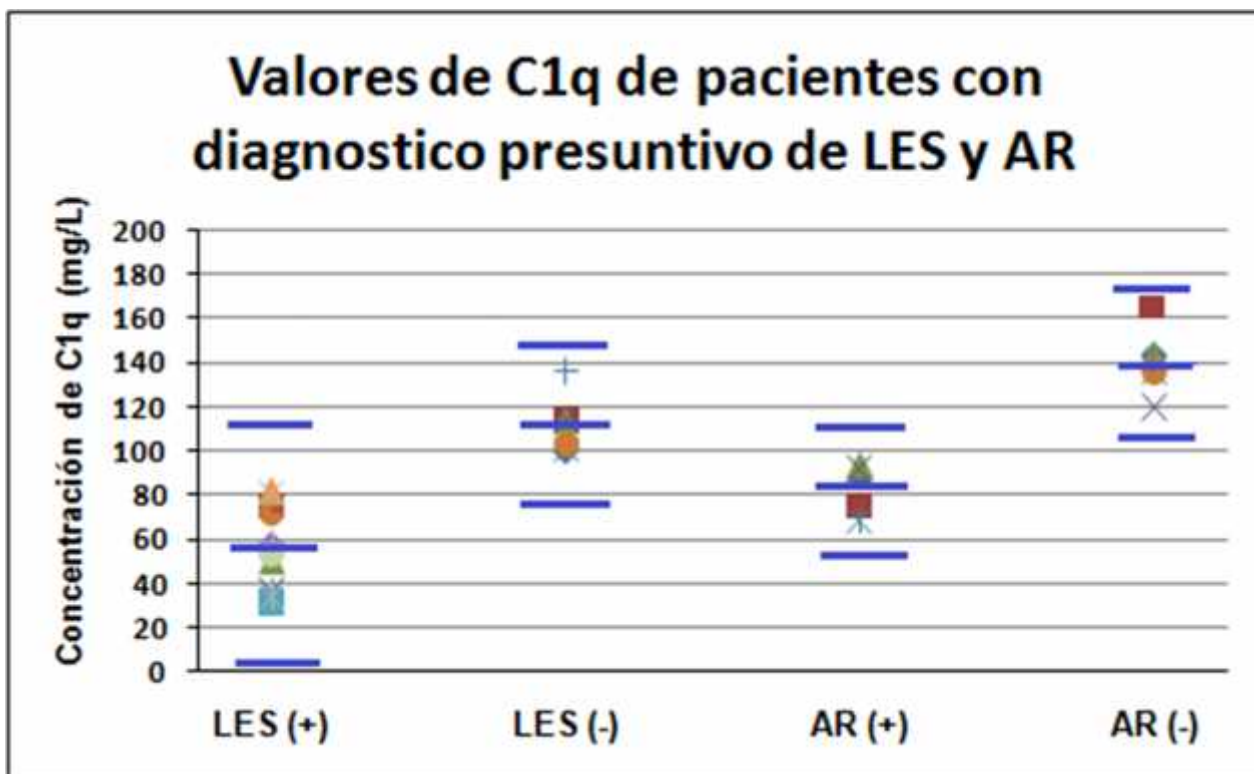
**Fig. Nº 24** Para la evaluación de los valores de C1q en pacientes con enfermedades autoinmunes como LES y AR, utilizamos un kit comercial (HUMAN) para el que los valores de los estándares fueron: St<sub>1</sub> = 11.5 mg/L; St<sub>2</sub> = 69 mg/L; St<sub>3</sub> = 115 mg/L. y con un diámetro de 14.09 (mm<sup>2</sup>), 39.35 (mm<sup>2</sup>), 59.55 (mm<sup>2</sup>) respectivamente, estos datos fueron utilizados para la construcción de la curva de calibración, con la que procedimos a la interpolación de los valores de las muestras para cuantificar sus respectivas concentraciones.

Por las limitaciones que se presentaron durante el desarrollo de la técnica por IDR sólo se utilizaron 36 muestras de las 49 en estudio, las cuales se distribuyen de la siguiente manera: para el grupo de pacientes con LES 16 son positivas<sup>15</sup>, 8 son

<sup>15</sup> Los términos positivos y negativos se utilizan solo por motivos convenientes ya que deben ser expresados como reactivos y no reactivos, hablando en términos inmunológicos.

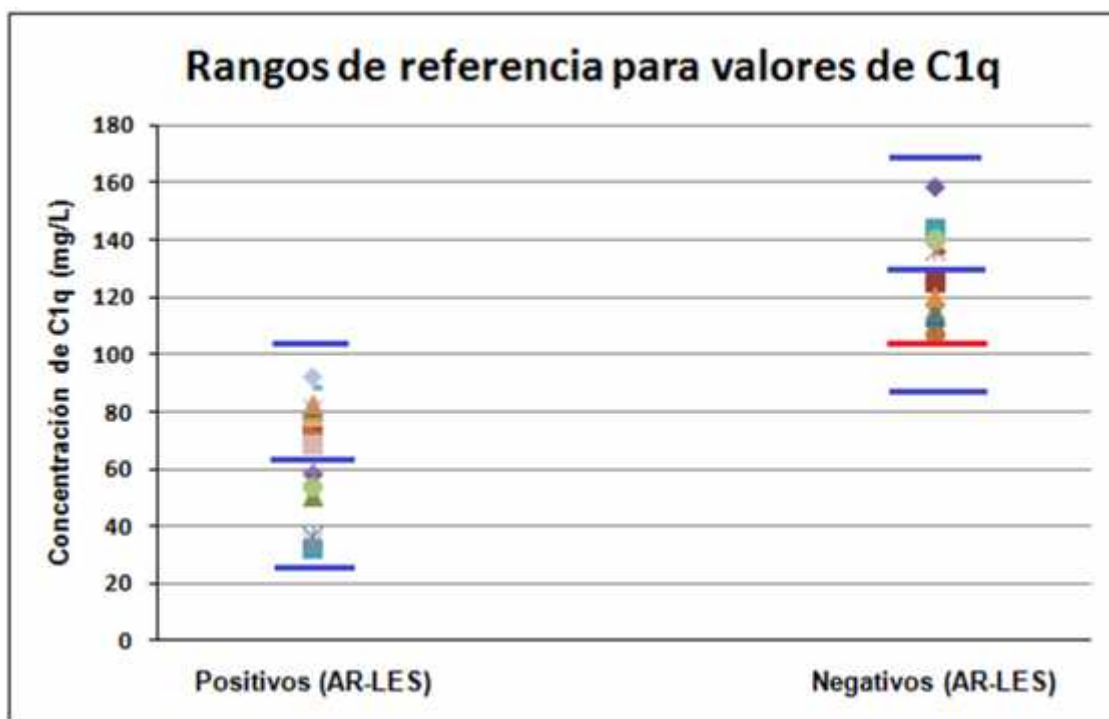
negativas y para el grupo de pacientes con AR, 7 son negativas y finalmente 5 fueron positivas.

**FIGURA Nº 25** Valores de C1q en pacientes con diagnostico de Lupus Eritematoso Sistémico y Artritis Reumatoide.



**Fig. 26** Los resultados de las 36 muestras procesadas por IDR para cuantificar concentraciones de C1q son los siguientes: el promedio para las muestras positivas para LES (16 muestras) es  $X=58.38$  con una  $DS=18.48$ ,  $+3DS=113.82$ ,  $-3DS=2.94$  los valores para LES negativos (8 muestras) tiene un  $X=113.56$  y una  $DS=11.6$ ,  $+3DS=148.36$ ,  $-3DS=78.76$ . Para el grupo de muestras positivas para AR (5 muestras) tenemos un  $X=83.64$  y una  $DS=10.05$ ,  $+3DS=113.79$ ,  $-3DS=53.49$  en cambio para muestras de pacientes negativos para AR (7 muestras) tenemos un  $X=139.65$  con una  $DS=11.43$ ,  $+3DS=173.94$ ,  $-3DS=105.36$ .

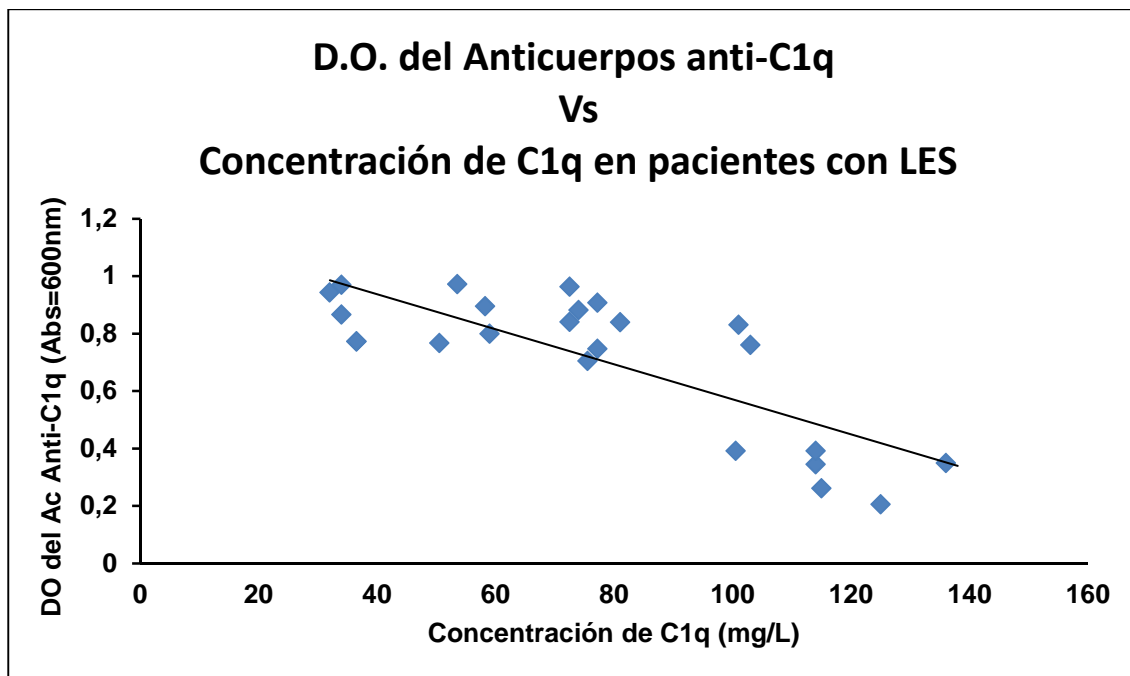
**FIGURA N° 26** Obtención del rango de referencia para valores de C1q.



**Fig. 25** De las 36 muestras procesadas por la técnica de IDR, obtuvimos el siguiente rango para la fracción C1q, en nuestra población; especificándose de la siguiente manera: que para el grupo de LES y AR positivos (reactivos) tenemos un  $X=64.39$  y una  $DS=20$  con un valor de  $+2DS=104.39$  y un valor de  $-2DS=24.39$  como limite inferior. Para el grupo de LES y AR negativos (no reactivos) tenemos un  $X=127.2$  y una  $DS=20.46$  con un valor de  $+2DS=168.12$  y un valor de  $-2DS=86.28$ . Obteniéndose como punto de referencia<sup>16</sup> un valor de 104 mg/L, por lo tanto consideramos como valores de rangos de referencia de pacientes normales una concentración mayor a 104 y que éstos podrían alcanzar una concentración hasta 168.1mg/L. De esta manera consideramos como valores fuera de rango aquellos valores que sean igual o menores a 104 mg/L. (Ver anexo N°3)

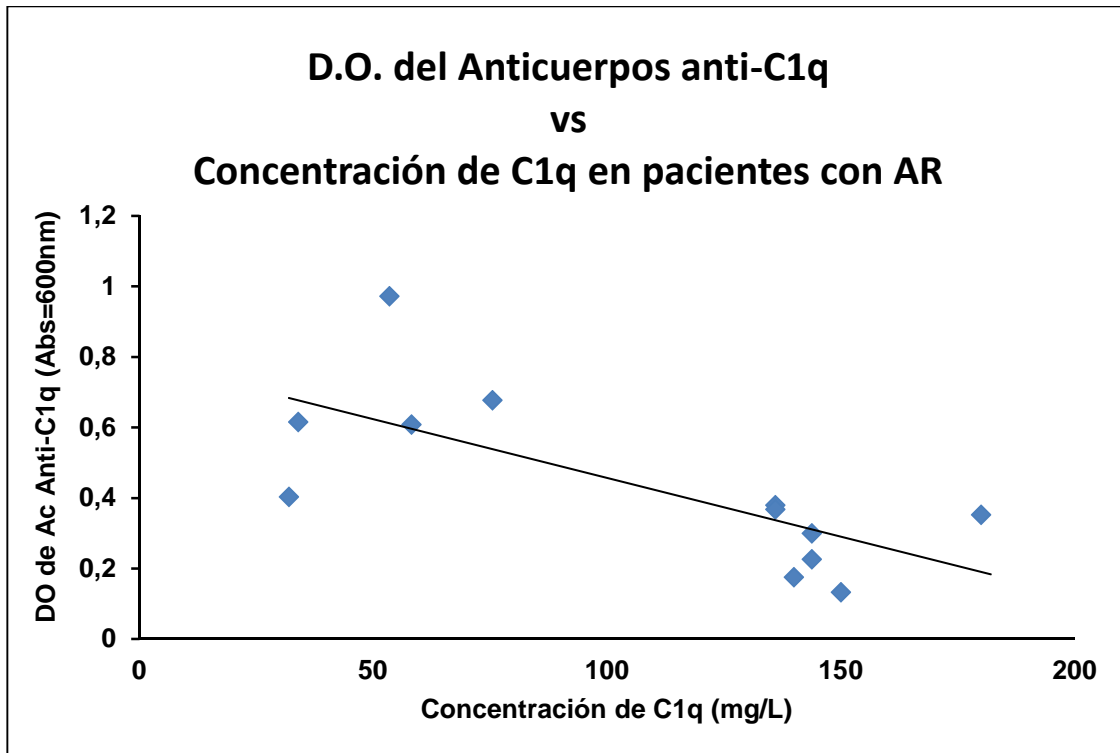
<sup>16</sup> La técnica de IDR no se estandarizo solo se obtuvo el punto de referencia para determinar los rangos de referencia.

**FIGURA Nº 27** Correlación entre la presencia del Anticuerpos Anti – C1q y la fracción C1q en pacientes con diagnostico de LES.



**Fig. 27** Para determinar la correlación que existe entre los niveles de anticuerpo anti C1q con la concentración de C1q, procedimos a realizar el test de correlación (r de Spearman). Donde se tomó el grupo de pacientes con LES (24 muestras de las 29 en estudio, la razón fue explicada con anterioridad) de las cuales 16 muestras eran positivas (reactivas) para LES y 8 negativas (no reactivas). Según estos datos la correlación para pacientes con diagnostico presuntivo de LES, entre ambas variables se tiene un valor de  $r^2 = -0.77122208$ .

**FIGURA Nº 28** Correlación entre la presencia de Anticuerpos Anti – C1q vs C1q en pacientes con diagnostico de AR.



**Fig. 28** Para determinar la correlación que existe entre los niveles de anticuerpo anti C1q con la concentración de C1q, procedimos a realizar el test de correlación (r de Spearman). Donde se tomó el grupo de pacientes con AR (12 muestras de las 20 en estudio, la razón fue explicada con anterioridad) de las cuales 7 muestras eran positivas (reactivas) para AR y 5 negativas (no reactivas). Según estos datos la correlación para pacientes con diagnostico presuntivo de LES, entre ambas variables tenemos un valor de  $r^2 = -0.6708352$ .

## DISCUSION

La prevalencia de enfermedades autoinmunes como LES y AR en nuestro medio, nos impulsa a buscar métodos de diagnóstico que nos ayuden a determinar marcadores de fase inicial y de diagnóstico temprano de la enfermedad. Los pacientes con LES, en su mayoría y en el transcurso de su enfermedad llegan a sufrir de daño renal <sup>(41)</sup>, que es la principal causa de muerte <sup>(2,5)</sup>, por lo que hace urgente la disponibilidad de pruebas que ayuden al diagnóstico temprano.

Desde hace muchos años atrás, se está tratando de encontrar dichos marcadores pudiéndose considerar la presencia de Anticuerpos anti – C1q, una de ellas. Su determinación es de mucha utilidad, ya que recientemente, según FELUPUS el año 2005 <sup>(44)</sup> propuso a este anticuerpo como un marcador en el LES, especialmente desde que su aparición ha sido correlacionada con lesión renal y con posible actividad de nefritis <sup>(43,45)</sup>. Por otro lado según WERTH y col. <sup>(18)</sup> el 2001, indican que la cuantificación de C1q, puede estar asociada a un mal pronóstico de Nefropatía secundaria a LES, especialmente cuando las concentraciones de C1q están disminuidos. <sup>(18)</sup>

Por ello propusimos determinar la presencia de este anticuerpo (Ac anti-C1q), mediante la técnica ELISA, procedimiento que no es invasivo, es sencillo de realizar y de mayor reproducibilidad, además los resultados se obtienen el mismo día del análisis. Paralelamente para cuantificar las concentraciones de C1q utilizamos la técnica de Inmunodifusión Radial (IDR), esta técnica es de fácil aplicación, necesita de poca cantidad de muestra y los resultados se obtienen en 48 horas.

En este sentido se realizó un estudio piloto, experimental, descriptivo de tipo test diagnóstico con muestras de pacientes con diagnóstico presuntivo de LES y AR del año 2009, una vez corroborado el resultado de sus pruebas en los registros, éstos fueron extraídos de sus respectivas unidades (HLA e INMUNOLOGIA) del Instituto SELADIS, para que puedan ser procesados en el laboratorio de Inmunología.

Respecto a los resultados obtenidos en nuestro estudio, éstos son los esperados ya que de acuerdo a la sensibilidad y especificidad de la técnica ELISA C1q, en relación a los dos grupos en estudio (LES y AR) en general tenemos un 100% de sensibilidad

y un 85 % de especificidad, por lo que consideramos, según la titulación de la técnica que la concentración a utilizarse del antígeno en los próximos ensayos es de 5ug/mL y la dilución del anticuerpo será 1/100. De manera similar, los resultados que obtuvo el Dr. ABDIAS <sup>(21)</sup> en Perú el año 2004 sobre el aumento del título del anticuerpo anti-C1q indica, que existe una elevada sensibilidad y especificidad (S=87% y la E=92%) especialmente en pacientes que presentan Nefritis Lúpica. <sup>(21)</sup> Ésta afección se debe tanto al proceso inflamatorio desencadenado por los mecanismos autoinmunes, como a la respuesta de los diversos componentes del tejido renal a dicha inflamación. <sup>(23)</sup> Por lo tanto el riñón es uno de los órganos implicados con mayor frecuencia en el LES y la mayoría de ellos presentará afección renal en algún momento de su evolución. <sup>(18)</sup>

El presente estudio se realizó en una población de 49 muestras (suero) de pacientes con sospecha clínica de LES y AR, entre los que tenemos: 29 muestras (suero) que representaron al grupo de pacientes con diagnóstico presuntivo de LES y 20 muestras (suero) representaban al grupo de pacientes con diagnóstico presuntivo de AR, basados en nuestros resultados tenemos que el punto de corte de la técnica tiene un valor de DO de 0.327 con un  $X = 0.227$  y una  $DS = 0.148$ , tomando en cuenta que para hallar el punto de corte se sumo un valor de 0.1 de forma aleatoria, esto para reducir la presencia de falsos negativos. El punto de corte nos ayuda a discriminar valores fuera y dentro del rango de normalidad, indicando claramente la diferencia que existe entre lo que son: pacientes con enfermedad y con ausencia de enfermedad. Entonces según esto tenemos que de todas las muestras positivas (no reactivas) para otros marcadores como Ac. anti DNAs, Ac. Anti CCP, FR y PCR (100%=29 muestras) en nuestro estudio el resultado también dio positivo, pero no fue así en el caso de aquellas muestras negativas (no reactivas), porque se pudo evidenciar que de todas las muestras (100%=20 muestras) 3 resultaron ser falsos positivos, entre éstos se encuentran 2 del grupo de LES y 1 del grupo de AR, la causa de estos resultados en el caso de LES puede deberse a que un título 1/40 positivo para ANA fue considerado como negativo en el estudio (no reactivo), porque se buscaba muestras con una positividad marcada, por lo tanto la presencia del Ac anti-C1q puede ser correlacionado también con esos títulos. Con relación al falso positivo del grupo AR este tenía un valor de 25 U/mL para Ac anti CCP el cual



es considerado como negativo aunque se encuentra en el límite de su rango de referencia, y el Ac anti C1q por la especificidad que presenta en AR puede ser considerado como marcador.

Por ello consideramos que todos aquellos pacientes que dieron valores fuera de rango para anticuerpo anti C1q en nuestro estudio, estaría coadyuvando a su diagnóstico; según SARACENO E. y col. <sup>(37)</sup> El año 2005 indican que por la técnica de ELISA se detecta anticuerpos anti C1q en más del 40% de los pacientes con LES, el 60% de los pacientes positivos para este marcador presentan nefropatía activa y solo un 15% no, esta información fue aclarada por la SOCIEDAD DE DERMATOLOGIA, en el consenso que se llevo a cabo el año 2006 sobre diagnóstico y tratamiento de Lupus eritematoso. <sup>(37)</sup> Cabe aclarar que en el caso de las muestras no se descarto otro marcador diferente, con el cual ingresó el paciente al instituto SELADIS para su respectivo análisis, en el de pacientes aparentemente sanos tampoco se descarto enfermedad alguna.

Según el punto de corte de la técnica ELISA C1q los resultados para pacientes con diagnóstico presuntivo de LES demuestran un 100 % de sensibilidad con un 80 % de especificidad, este dato nos sugiere que la presencia del anticuerpo anti C1q, correlaciona de manera significativa con la enfermedad pudiéndose hacer presente un brote renal, ya que según GRANDE JP, Balow. en 1998 indica que los autoanticuerpos que sobresalen en el LES y en la nefropatía Lúpica son los anticuerpos contra C1q, los cuales están dirigidos contra la región colágena de C1q. Esta información fue corroborada por MORTENSEN et al. el 2008 <sup>(48)</sup> quienes realizaron un monitoreo de la actividad Lúpica relacionada con el anticuerpo anti-C1q, donde refieren que la elevación de este marcador es considerado como factor patogénico en la generación de las lesiones renales y por ello su importancia. <sup>(40)</sup> En las XII JORNADAS DE INVESTIGACIÓN de Mayo – Agosto del 2008 GONZALES M. indica que la elevación del título del anticuerpo anti C1q (marcador de actividad lúpica) tiene mayor correlación con enfermedad renal que los Ac anti-DNAs, especialmente en nefritis. Considerando que su diagnóstico podría confirmar el diagnóstico de nefritis lúpica proliferativa. <sup>(48)</sup> Otro caso similar a nuestro estudio, realizado por SINICO R.A. y col. <sup>(43)</sup> el año 2005 en una población de pacientes con LES activo, encuentra la presencia de valores altos del Ac anti C1q, especialmente

cuando estos pacientes presentan brotes renales, el cual se encuentra en un porcentaje significativo. <sup>(22,43)</sup> Por otro lado los resultados del punto de corte de la técnica en estudio para pacientes con diagnóstico de AR nos ofrece mejores resultados, ya que tenemos un 100% de sensibilidad y 90% de especificidad por lo tanto podemos sugerir que la presencia del Ac anti C1q tiene una correlación significativa y de forma directa con la enfermedad activa, sin embargo como no existen datos estadísticos ni estudios realizados, ni referencia bibliográfica que corroboren nuestros resultados, éstos se quedarán en la incertidumbre, hasta que se realicen otros estudios al respecto y se pueda aclarar con bases más sólidas su presencia.

La significancia clínica de estos anticuerpos y su relación con las diferentes enfermedades autoinmunes son sujeto de muchos estudios y discusión. <sup>(47)</sup>

Sin embargo siendo la medicina una ciencia de probabilidades y un arte de manejar la incertidumbre, una buena prueba diagnóstica será la que ofrece resultados positivos en pacientes enfermos y negativos en pacientes sanos. <sup>(49)</sup> Por lo tanto para que nuestro estudio tenga validez frente a otros marcadores y apoyen el diagnóstico presuntivo de estas enfermedades, los valores predictivos deben ser altos, al igual que la sensibilidad y la especificidad de la técnica. De manera que los resultados que se obtuvieron en nuestro estudio, según los valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) tenemos un 100% y un 85% respectivamente, en forma general (LES y AR) con ello se puede decir que todas aquellas muestras que dieron positivo a las técnicas de referencia y a nuestro estudio están realmente enfermos. De lo contrario para los que dieron negativos para las técnicas de referencia y no en el estudio se puede decir que existe un 15% de esa población en cual podría estar en riesgo de presentar alguna enfermedad, por lo que deben ser incluidos en el seguimiento y control de LES y AR. Según estos resultados para el grupo de LES tenemos un VPP del 90% y un valor de VPN del 100%, de los cuales el 10% (2 pacientes) de la población podría presentar LES. Para el caso de AR se tiene un VPP de 91% y un VPN de 100%, de los cuales un 9% (1 paciente) podría presentar AR en el futuro y también se debe someter al seguimiento en la evolución de la enfermedad.

Conociendo ya la sospecha diagnóstica de la enfermedad, con el estudio que es de tipo test diagnóstico como una prueba de apoyo se pretende confirmar la enfermedad descartando aquellos pacientes que realmente estén sanos y realizar otro estudio solo con aquellos que estén enfermos y dieron un resultado positivo tanto en las pruebas de referencia como en la prueba en estudio o que hubiesen dado un resultado falso positivo.

La disminución de la proteína C1q puede estar asociado al consumo por activación acelerado del complemento <sup>(22,44)</sup> (que supera la síntesis hepática) y por ello se vería alterada la eliminación de inmunocomplejos, la causa más frecuente es el aumento de complejos inmunes circulantes (ICC) <sup>(23,46)</sup> que activa la vía clásica del complemento, otra causa podría ser el déficit de algunos factores del complemento, como el C2, C4, C1 y C1q se han relacionado con la aparición de LES. <sup>(46)</sup> Sin embargo en nuestras poblaciones no se descartó la deficiencia hereditaria <sup>(6)</sup> de alguno de los factores del sistema del complemento, por lo que queda la posibilidad de que el origen para estas lesiones sean causados por autoanticuerpos dirigidos contra esta proteína.

Hubiese sido bueno determinar la presencia de complejos inmunes circulantes unidos a la proteína C1q, ya que estos intentan ser directamente relacionadas con la severidad de las manifestaciones renales <sup>(21)</sup>, pero en nuestro estudio descartamos esta situación, ya que por el proceso de congelación y descongelación continua de las muestras <sup>(49)</sup> se elimina una gran parte de estos complejos y por lo tanto no se las pudo identificar. Las muestras deben estar refrigeradas durante 2 a 3 semanas a 8°C ó a -20°C <sup>(49)</sup> por dos meses para mantenerlas, ya que son lábiles a la temperatura. <sup>(53)</sup> En nuestro caso las muestras no fueron procesadas de inmediato y fueron refrigeradas durante un mes hasta su procesamiento.

Con relación a la fracción C1q del complemento, los resultados que obtuvimos para determinar el rango de referencia, difieren un poco a la literatura <sup>(6,33)</sup> pero determinamos que valores menores a una concentración de 104 mg/L, serán considerados como fuera de rango y aquellos valores que sean mayores a 104 mg/L y que alcancen hasta una concentración de 168 mg/L se considerarán como dentro del rango de normalidad. Según CASTAÑEDA <sup>(48)</sup> *et al.* el año 2003 indicó que la

disminución de esta proteína (C1q) puede ser sugestivo de actividad de nefritis con mayor probabilidad en pacientes con diagnóstico de LES.

Las deficiencias de C1q en LES es del 90%, C2 (15%) y C4 (75%) <sup>(51)</sup> y pueden presentarse en enfermedades reumatológicas como LES y AR siendo las causas más comunes, infecciones recurrentes por bacterias o complejos inmunitarios. <sup>(51)</sup> El complejo C1q se ha asociado con LES activo y LES latente en pacientes con artritis y nefritis. Es capaz de predecir variaciones en la actividad de la enfermedad en el 82% de los casos y en muchas ocasiones es considerado marcador de LES latente. <sup>(52)</sup> La disminución de factores del complemento no son útiles para predecir la actividad lúpica, pero si se asocia con la actividad renal. <sup>(52)</sup>

Según la correlación que existe entre los niveles del anticuerpo anti C1q y la concentración de la fracción C1q en pacientes con diagnóstico de LES tenemos un valor de  $r^2 = -0.7712220$ , este dato nos indica de forma paralela la gravedad de la enfermedad ya que existe una elevación del anticuerpo y una disminución de la fracción C1q, correlacionándolo especialmente con daño renal, ya que ARGOTE y col. el año 2003 encontraron una correlación directa entre la concentración de estos anticuerpos y la presencia de glomerulonefritis proliferativa, con incremento mayor durante las crisis lúpicas. Por lo tanto la presencia de Ac anti C1q contribuye al diagnóstico diferencial de otras nefropatías glomerulares. <sup>(43)</sup>

En cambio el valor de correlación entre ambas variables para pacientes con diagnóstico de AR es  $r^2 = -0.6708352$  aunque menor con respecto a los pacientes con LES, pero de igual forma deben ser monitorizados, ya que esta correlación representa la gravedad de la enfermedad aunque en estos pacientes no exista relación de daño renal.

Se trata en todo caso de datos preliminares y correspondería hacer una prueba de seguimiento de pacientes especialmente con LES para establecer la utilidad de esta prueba, en el diagnóstico temprano de acceso de la enfermedad.

## XII. CONCLUSIONES

- La estandarización de la técnica ELISA - C1q se realizó mediante la determinación de las concentraciones ideales en la titulación, obteniendo así una concentración para el antígeno un valor de 5 ug/mL y una dilución de 1/100 para el anticuerpo.
- Con la estandarización de la técnica ELISA - C1q determinamos el punto de corte, que fue un valor de  $DO=0.327$  con este dato podemos discriminar valores fuera y dentro del rango de normalidad.
- La sensibilidad de la técnica ELISA C1q es igual a 100%, la especificidad es igual al 85% y los valores predictivos positivos y negativos son 91% y 100% respectivamente.
- El rango de referencia para valores de C1q mediante la técnica de IDR en nuestra población (pacientes con diagnóstico de LES y AR) es una concentración mayor a 104 ug/mL hasta una concentración de 168.1ug/mL.
- La correlación que existe entre los niveles del anticuerpo anti C1q y la concentración de C1q para pacientes con diagnóstico de LES se tiene un valor de  $r^2 = - 0.7712220$  y para pacientes con diagnóstico de AR se tiene un valor de  $r^2 = - 0.6708352$ .
- Por las ventajas que presenta esta técnica, puede ser utilizada de forma periódica, de modo que el paciente tenga mayor acceso para realizar su control de forma periódica y evitar futuras complicaciones.

### **XIII. RECOMENDACIONES**

- ❖ Para tener mejores resultados y que esta prueba tenga utilidad clínica en nuestra población será necesario realizar un estudio tipo caso control o de cohorte por ejemplo, con una población más definida, considerando su edad y raza, especialmente en pacientes con diagnóstico confirmatorio de LES y AR. Para así poder monitorear los periodos de remisiones y especialmente en las exacerbaciones de los pacientes con LES, además de controlar su tratamiento ya que en nuestro estudio no se tomo en cuenta.
  
- ❖ Además de realizar este tipo de estudios, es necesario informar a la población en general sobre la importancia que tiene realizarse un diagnóstico precoz sobre enfermedades autoinmunes previniendo futuras complicaciones.
  
- ❖ También se debe dar a conocer, que con la realización de estudios de investigación surgen nuevos marcadores, como técnicas que las realizan, los cuales presentan mayores ventajas y así el paciente tenga la accesibilidad correspondiente.

#### XIV.- REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- (1) ABBAS L., Abul K. **Enfermedades producidas por respuestas inmunitarias: Hipersensibilidad y autoinmunidad.** Inmunología Celular y Molecular. 5 Edición. Ed Saunders Elsevier.2004 cap.18 p. 419-438.
- (2) ROJAS William M. **Enfermedades sistémicas.** Inmunología. 10ª ed. Corporación para investigaciones biológicas. Medellín, Colombia 1995 p 295 – 301.
- (3) TIJERINO M. **Correlación Clínico-Histopatológica de la Nefritis Lúpica en niños del hospital infantil Manuel de Jesús Rivera "la mascota"** Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua enero 1999 a diciembre 2002, Managua.
- (4) STITES D. Terr A. MD. **Complemento y cininas** Inmunología básica y Clínica.10 Edición. Editorial El Manual Moderno , México DF-2002.
- (5) RAMÍREZ Gerardo, Gamarra G, Badillo R, Daza N. Uribe B. **Lupus Eritematoso Sistémico.** Guías de práctica clínica basadas en la evidencia. Proyecto ISS – ASCOFAME 2002 p.11- 45.
- (6) ABBAS L., Abul K. **Tolerancia Inmunitaria.** Inmunología Celular y Molecular. 5 Edición. Ed Saunders Elsevier.2004 cap.11 p.224-26
- (7) RAHMAN Anisur, Isenberg D. **Una puesta al día sobre los complejos mecanismos inmunológicos responsables del daño tisular.** Artículos de actualización LES. 14 abril 2008;358-929-39.
- (8) CAMPOS D, Torrado O, Lozano Graciela, Crouzeilles C. **Glomerulonefritis necrotizante en artritis reumatoide** Rev. Nefrol. Diál. y Transpl. Departamento de Anatomía Patológica Buenos Aires, Argentina Volumen 24 - N° 3 - 2004, Pág. 125-128 **Disponible** en: [http://www.renal.org.ar/revista/Vol24/3/24\\_3\\_125.htm](http://www.renal.org.ar/revista/Vol24/3/24_3_125.htm)
- (9) SCHWEINEBERG Iopez Johana, **Lupus Eritematoso Sistémico.** Wikipedia Modificada por última vez el 29/ abril / 2009. **Disponible** en: [http://es.wikipedia.org/wiki/anticuerpo/enfermedad\\_autoimmune](http://es.wikipedia.org/wiki/anticuerpo/enfermedad_autoimmune).
- (10) CHOQUE Huanca M. **Frecuencia de enfermedades diagnosticadas mediante el ELISA para antígenos nucleares extractables y el grado de correlación con la prueba de IFI para ANA en SELADIS.** 2000-2006
- (11) MEJÍA Salas H. Mendoza Ametller A., **Lupus eritematosos sistémico.** Rev.bol.ped. vol.43 no.1 La Paz Jan.2004 **Disponible** en: [http://www.bago.com.bo/sbp/revista\\_ped/Vol43\\_1/html/lupus\\_eritematoso.html](http://www.bago.com.bo/sbp/revista_ped/Vol43_1/html/lupus_eritematoso.html)
- (12) QUISPE Quelca C. **Incidencia de LES en pacientes atendidos en el Instituto de laboratorio de diagnostico e investigación en Salud (SELADIS). Durante el periodo 2000 al 2004.** Presentado el 2006.

(13) RUTSTEIN Joel, Mosbacker M. **Mapa interactivo de enfermedades para Lupus eritematoso sistémico** - ArtritisCentral.com 2000 **Disponible en:** <http://www.artritiscentral.com/html/spmaplupus.htm>

(14) PALOMO I, Ferreira , Roseblatt M, Sepúlveda C, Vergara U (Eds). **Enfermedades Reumáticas**. Editorial Universidad de Talca 2002 cap.31 p.495 -511.

(15) ROJAS Montoya W. **Enfermedades Sistémicas**. Inmunología. 10ª ed. Corporación para investigaciones biológicas. Medellín, Colombia 1995cap. 25 p. 124 – 136.

(16) GALARZA P, Laruta M, Strada A, Casellas A. **Marcadores Séricos en Pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES): su relación con el compromiso renal**. Red de revistas Científicas de America Latina y el Caribe, España y Portugal. AÑO/VOL.69, NUMERO 002 Universidad Autónoma del Estado de Mexico Asociación Bioquímica Argentina. Versión impresa en Argentina 2005. pp. 58-61

(17) LABORATORIO CLÍNICO. **Que Parámetros utilizar si sospecha de: lupus eritematoso sistémico**. INREUMI E-mail: [inreumi@hotmail.com](mailto:inreumi@hotmail.com)

(18) WERTH Victoria, Pacheco B. **Tratamiento actual del lupus eritematoso cutáneo**. Dermatology Online Journal 7(1). Departamento de Dermatología, Universidad de Pensilvania 2001.

(19) PAGE. Curtis Col. **Farmacología Integrada**. Ediciones Harcourt 1997 p. 344-349

(20) SERRI Michel, Tagle R. **Glomerulonefritis secundarias no diabética**. Revisión. Marzo 2003. capítulo 38 pag 1-7

(21) HURTADO Aréstegui A. **Nefritis Lúpica diagnóstico y tratamiento**. 2do congreso internacional de nefrología por internet. Lima –Perú [DMNEFAL@upch.edu.pe](mailto:DMNEFAL@upch.edu.pe). 2005

(22) REYES Rosano M.A.. **Nefropatía Lupica**. Servicio Nefrología. Instituto mexicano del Seguro Social.Bol.Med,Num.3 Vol1ª julio – agosto de 2004.

(23) LÓPEZ Aguilar A, Cleaves Tomé F, Rivera de Gómez Márquez C, **NEFRITIS LUPICA** Departamento de Pediatría HE y Patología.08/ agosto/2001.p15-19.

(24) SÁNCHEZ I, Sánchez V, Teruel C , Menéndez J. **Nefritis lúpica** Departamento de Anatomía Patológica de la Clínica Puerta de Hierro. Madrid. REV ESP PATOL 2002; Vol 35, n.º 3: 269-278.

(25) MORERA Castro Y, González Núñez L, Gómez Barry H, Guerrero M. **Nefritis lúpica: revisión de diferentes aspectos clínicos-patológicos** Instituto de Nefrología “Dr. Abelardo Buch López” UNIV DIAG 2003;3 (1):10-4.



(26) ARGOTE Eduardo, CASTRO Adolfo **Patogénesis de la nefritis Lúpica**. Departamento de medicina Interna, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali. Recibido para publicación noviembre 7,2003 aprobado para publicación febrero 6, 2004.

(27) LA PRENSA .**Artritis reumatoide. Afecta más a mujeres que a varones; de no ser detectada a tiempo, puede producir discapacidad**. Sabatino La Paz-Bolivia Sábado, 4 de abril de 2009. **Disponible** en:

<http://www.ops.org.bo/servicios/?DB=B&S11=6320&SE=SN>

(28) MENDOZA Amatller A, Mejía Salas H. **Artritis reumatoide juvenil**. Sociedad Boliviana de Pediatría. **Disponible** en:

[http://www.bago.com.bo/sbp/revista\\_ped/Vol43\\_3/html/artritis\\_reumatoide.html](http://www.bago.com.bo/sbp/revista_ped/Vol43_3/html/artritis_reumatoide.html)

(29) OPS/OMS **La artritis reumatoide no tiene cura y afecta sobre todo a las mujeres**. Centro de Noticias Bolivia Madrid España 01 de febrero de 2006.

(30) GARCIA Vargas M, Quesada Soledad M. **Artritis reumatoide fisiopatología y tratamiento**. CIMED (Centro de información del medicamentos) Marzo 2004 Serie de actualización Profesional 2004. INIFAR Facultad de Farmacia, Universidad de Costa Rica pág. 2-13.

(31) FREIRE Gonzales M y col. **Artritis reumatoide**. Servicio de reumatología del complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo 2004; 4 (39). pag 1 – 6 Disponible en:[html//www.fisterra.com](http://www.fisterra.com)

(32) ABBAS L., Abul K. **Sistema del Complemento**. Inmunología Celular y Molecular. 5 Edición. Ed Saunders Elsevier.2004 cap.14 p. 289-301.

(33) HOY.COM.EC. El primer diario en línea de América del sur. **Un gen causa la artritis reumatoide**. LA enfermedad causa discapacidad física si no es tratada. Domingo 10 de mayo de 2009 Publicado el 25 /Marzo/2009.

(34) REVISTA CONSUMER. **Artritis Reumatoide** Diagnóstico precoz, esencial para combatirla. 01 Noviembre 2002 pag.1 Disponible en:

<http://revista.consumer.es/web/es/20021101/pdf/salud.pdf>

(35) INMUNOLOGIA LAbMedica. es **Diagnostican artritis reumatoide con análisis anti-CCP**. Noticias medicas del dia .editorial Labmedica en español Actualizado el 28 Diciembre 2009.

(36) MAESE Manzano J. **RS1: Valor de los Ac anti-CCP en el diagnóstico y pronóstico de la AR**. Unidad de Investigación, Fundación Española de Reumatología, MADRID 15/07/06. pag 1-18

(37) INSTITUT FERRAN de Reumatología. **Anticuerpo contra el Péptido Cíclico de la Citrulina (anti CCP)**. De interés en reumatología Última Modificación : 19 Enero 2008.p.1-2.

(38) BENNANI A, Acevedo C. Alcaraz, A. **Anticuerpos antipéptido citrulinado en el diagnóstico de artritis reumatoide.** Asociación española de farmacéuticos Analistas Modesto Lafuente, Madrid. Actualidades 2005. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia. Pag. 54-58

(39) GARCÍA Olivares E., A. Alonso, J. M. Miranda y J. Peña. **El Complemento.** Phadia. Inmunología en línea. Coordinador : José Peña Martínez. Disponible en: [http://www.inmunologiaenlinea.es/index.php?option=com\\_content&view=article&catid=45%3Acomplemento&id=88%3Acomplemento&Itemid=126&showall=1](http://www.inmunologiaenlinea.es/index.php?option=com_content&view=article&catid=45%3Acomplemento&id=88%3Acomplemento&Itemid=126&showall=1)

(40) KALUGUINA A, González A, Sharman A et al, **Nefritis Lúpica.** *Nephrol Dial Transplant* Tema de revisión 2004;19:1420

(41) OPS/OMS Centro de Noticias. **800 personas enferman del mal crónico de riñones.** La razón. La Paz Bolivia 12 de Enero de 2005 **Disponible** en: <http://www.la-razon.com/>

(42) MONOLAB S.L. Selva de Mar. Servicios de laboratorios de diagnóstico clínico. **Disponible** en: [http://és.wikipedia.org/wiki/inmunodifusión\\_radial](http://és.wikipedia.org/wiki/inmunodifusión_radial)

(43) SINICO R.A, Radice A, Ikehata M, Giammarresi G, Corace C, Arrigo G, Bollini B, Li Vecchi M. **Anti-C1q Anticuerpos en la nefritis del lupus: prevalencia y significado clínico.** FELUPUS. Dipartimento di Nefrologia e Immunologia. Ann N Y Acad Sci 2005 Jun;1050:193-200.

(44) SARACENO Esteban F., Graciela E. Pizzariello, Mario A. Marini. **Consenso sobre diagnóstico y tratamiento de Lupus Eritematoso 2006.** Sociedad de Dermatología. 2005-2006.

(45) FERRO Roberto; Serracin Demetrio. **Factores de Riesgo y pronóstico de Nefritis Lúpica.** Vol. 6, N°2 CIMEL Artículo original (CCA EMP) Panamá 2003.p 67 – 71.

(46) FERRO R, Medina F, Serracín D. **Anti-dsDNA, Anti-Smith y Anti-La: Factores de riesgo y pronóstico de nefritis** Artículo Original. Comité Científico de la Asociación de Estudiantes de Medicina de Panamá (CCAEMP). Panamá CIMEL 2006. Panama 2003 VOL. 11 N° 2 pag. 67-71.

(47) CASTAÑEDA Sepulveda R, Jorge A. Esquivel Valerio. Nefritis Lupica. Artículo de Revisión. Medicina Universitaria 2003;5(20):161-8

(48) GONZÁLEZ M, Torres Del Muro J. **Esquivel Elías Expresión de WT-1 y PAR-4 en pacientes con nefropatía lúpica.** Revista Investigación Científica, XII JORNADAS DE INVESTIGACIÓN Vol. 4, No. 2, Nueva época. Mayo - Agosto 2008.

(49) FERNANDEZ Pita, S. Diaz Pértegas. **Metodología de la investigación.** Pruebas diagnósticas. Unidad de epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario de A. Coruña (España) 2003; 10:120 – 124






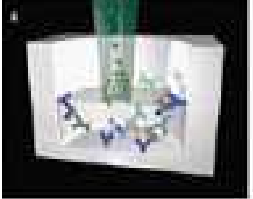




(50) YANELKYS Padrón, Vianed M, Villaescusa R Blanco y Macías A **Deficiencias de los componentes de las vías de activación clásica y alternativa del sistema del complemento** Instituto de Hematología e Inmunología Rev. Cubana Hematol Inmunol Hemoter v.22 n.1. Versión impresa ISSN 0864-0289 Ciudad de la Habana ene.-abr. 2006.

(51) CADAVIDA. Luis F. **Citoquinas, complemento e inmunidad mediada por células.** Inmunología Evolutiva. Enero 2009.

(52) GONZÁLEZ L, Vásquez G, Uribe O, Ramírez A. **Nefropatía Lúpica. Presentación clínica, clasificación y tratamiento** REVISTA COLOMBIANA DE REUMATOLOGÍA VOL. 13 No. 4, Diciembre 2006, pp. 307-333

**ANEXOS**

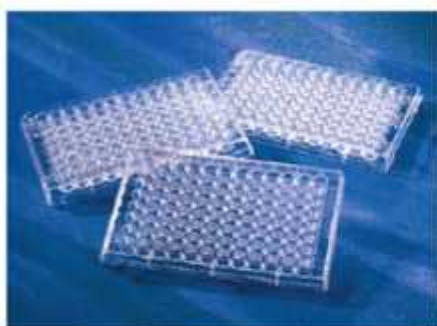
## ANEXO N°1 Pasos generales de la técnica ELISA

1. Tapizado del pocillo con el antígeno o anticuerpo.		6. Unión del anticuerpo secundario al antígeno o anticuerpo.	
2. Adición de la muestra problema con la mezcla de antígenos o anticuerpos.		7. Lavado del pocillo para eliminar el exceso de enzima no unida.	
3. Unión del antígeno o anticuerpo específico al anticuerpo o antígeno tapizado en el pocillo.		8. Adición del sustrato.	
4. Lavado del pocillo para eliminar el exceso de antígeno o anticuerpo no unido.		9. Unión del sustrato a la enzima.	
5. Adición del anticuerpo secundario marcado con la enzima.		10. Desarrollo del color.	

**Fuente:** Cultek.com Soluciones ELISA protocolo y técnicas

## ANEXO N°2

Placas de poliestireno de 96 pocillos y lector de ELISA



Microplacas de poliestireno de 96 pocillos



Lector de placas de 96 pocillos

## ANEXO N°4

**Tabla N°1** Punto de corte para determinar la presencia de Ac anti C1q mediante de la técnica de ELISA, determinado en una población de 49 muestras de pacientes con diagnostico de LES y AR

Punto de corte o cut-off de la técnica ELISA-C1q		
	D.O. Positivos	D.O. Negativos
Promedio	0,754	0,227
DS	0,148	0,083
Promedio + 3 DS	1,198	0,476
Promedio - 3 DS	0,31	-0,022
Cut-off	0,327	

**Tabla N°2** Rangos de referencia para la fracción C1q determinados en una población de 36 muestras de pacientes con diagnostico de LES y AR

Valor de referencia de la técnica IDR-C1q		
	Concentración de Positivos (mg/L)	Concentración de Negativos (mg/L)
Promedio	64,39	127,2
DS	20	20,46
Promedio + 3 DS	124,39	168,12
Promedio - 3 DS	4,39	86,28
Rango de referencia	>104 - 168.12	
Fuera de rango	< 104	

**Tabla N°3.** Calculo para Sensibilidad, Especificidad y Valores predictivos de la técnica ELISA

Resultado de la prueba	Prueba de referencia, diagnostico verdadero		
	Enfermo (+)	Sano (-)	TOTAL
Positivo (+)	Verdaderos positivos (VP)	Falsos positivos (FP)	VP + FP
Negativo (-)	Falsos Negativos (FN)	Verdaderos Negativos (VN)	FN + VN
TOTAL	VP + FN	FP + VN	TOTAL

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}} \times 100$$

$$\text{VPP} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}} \times 100$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FP}} \times 100$$

$$\text{VPN} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FN}} \times 100$$

**ANEXO Nº5**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Titulo del trabajo de investigación: **“Presencia de anticuerpo anti C1q y cuantificación de la fracción C1q para el apoyo al diagnostico y seguimiento de enfermedades autoinmunes en especial Lupus Eritematoso Sistémico y Artritis reumatoide”**

Bolivia La Paz \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2009

A quien corresponda:

Declaro, libre y voluntariamente, que mi nombre es \_\_\_\_\_ y que acepto participar en trabajo de investigación clínica, que se realizara en el instituto SELADIS para determinar la presencia de anticuerpo anti C1q y cuantificar la fracción C1q en mi muestra de sangre. Entiendo que es muy importante debido a que muchas personas con enfermedades autoinmunes especialmente con Lupus eritematoso Sistémico y Artritis reumatoide en un determinado momento de evolución de la enfermedad pueden sufrir daño renal, derivándose en serias complicaciones.

Se me ha explicado que los resultados de esta investigación beneficiará a muchas personas con este diagnostico.

Estoy consciente que la muestra que se utilizara será del remanente de mi muestra que se me tomo cuando solicite los exámenes laboratoriales personalmente, por lo que no presenta ningún riesgo a mi persona.

Es de mi conocimiento que no tiene costo adicional y seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que así lo desee. También que puedo solicitar información adicional del presente estudio. En caso de que decidiera retirarme, la atención que como paciente recibo en esta institución no se vera afectada.

La estudiante Claudia Calle Choque se ofrece a responder cualquier duda al respecto, en el Instituto SELADIS, 3er piso; Laboratorio de Inmunología.

Además de mi persona, firman como testigos:

**Nombre:**.....  
**Firma:**.....  
**Dirección:**.....  
**Tefefono:**.....

**Testigo**  
**Nombre:**.....  
**Firma:**.....  
**Dirección:**.....  
**Telefono:**.....

**Testigo**  
**Nombre:**.....  
**Firma:**.....  
**Dirección:**.....  
**Telefono:**.....