



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
IMSS
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD HE CMNR
“ANTONIO FRAGA MOURET”
REUMATOLOGIA**

**ASOCIACIÓN ENTRE LAS CONCENTRACIONES SÉRICAS DE LIGANDO
CD40 SOLUBLE PLAQUETARIO Y PRESENCIA DE EVENTOS
TROMBÓTICOS EN PACIENTES CON SÍNDROME DE ANTICUERPOS
ANTIFOSFOLÍPIDOS PRIMARIO**

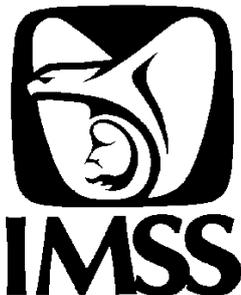
TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN REUMATOLOGIA
P R E S E N T A :**

DRA. AIDA GALICIA LÓPEZ

ASESOR : DRA. MARIA DE LOURDES OLGUIN ORTEGA

MÉXICO, D. F. 2010



R-2009-3501-67



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DR. JESUS ARENAS OSUNA.

Jefe de División en Educación Médica

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional La Raza.

DR. MIGUEL ANGEL SAAVEDRA SALINAS

Jefatura de Reumatología

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional La Raza.

DRA. AIDA GALICIA LÓPEZ

Médico Residente de Cuarto año en Reumatología.

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional La Raza.

I. RESUMEN.

Antecedentes. El SAF es una trombofilia relacionada con anticuerpos antifosfolípidos. Múltiples mecanismos han sido propuestos para justificar la presencia de trombosis en estos pacientes. Se ignora si la activación plaquetaria vía CD40/CD40L juega un papel en el SAF primario.

Objetivo. Determinar las concentraciones de sCD40L plaquetario en pacientes con SAF primario y si el incremento en las concentraciones de sCD40L se relacionan con mayor número de trombosis

Tipo de Estudio. Transversal comparativo descriptivo

Lugar de realización. Departamento de Reumatología del HECMNR.

Sujetos de estudio. 47 pacientes con SAF primario y 22 sujetos sanos

Material y métodos. Se incluyeron tres grupos de pacientes: sujetos sanos, pacientes con SAF y <2 trombosis y pacientes con SAF con >2 trombosis. Se determinó por ELISA las concentraciones de sCD40L en cada uno de ellos. Se analizó mediante ANOVA la asociación entre las concentraciones de sCD40L y número de trombosis en pacientes con SAF primario.

Resultados. Las concentraciones de s CD40L fueron significativamente mayores en los pacientes con SAF primario vs controles (9.72 ng/ml vs 4.69 ng/ml, p= de 0.04.) No se encontró asociación entre las concentraciones de sCD40L y número de trombosis. Entre las pacientes con SAF se observó una tendencia a mayores concentraciones en aquellas con manifestaciones obstétricas sin que se alcanzara una diferencia estadísticamente significativa (12.1 ng/ml vs 8.2 ng/ml, p =0.16)

Conclusiones. Los pacientes con SAF primario tienen concentraciones mayores de sCD40L en comparación con sujetos sanos. No existe correlación entre el número de trombosis y las concentraciones de sCD40L. Entre los pacientes con SAF existe una tendencia a mayores concentraciones de sCD40L en pacientes con manifestaciones obstétricas.

Palabras clave. sCD40L, Trombosis, activación plaquetaria, anticuerpos antifosfolípidos.

I. SUMMARY

Abstract. Antiphospholipid Syndrome is a thrombophilia related to the presence of antiphospholipid antibodies. Multiple mechanisms have been proposed to justify the presence of thrombosis in these patients, one being platelet activation. It was unclear whether platelet activation CD40/CD40L pathway plays role in primary APS.

Objectives: To determine platelet sCD40L concentrations in patients with primary APS and if the increase in levels of platelet sCD40L are associated with increased number of thromboses

Design: Comparative cross-sectional descriptive

Subjects: 47 patients with primary APS and 22 healthy controls

Materials and Methods: We included three groups of patients: healthy subjects, patients with primary APS and a history of < 2 thrombosis, and patients with primary APS and history of > 2 thrombosis. We determined platelet sCD40L concentrations by ELISA in each of them. Was determined by ANOVA test the association between platelet sCD40L concentrations and number of thrombosis in patients with primary APS.

Results: sCD40L concentrations were significantly higher in patients with primary APS vs. healthy controls (9.72 ng / ml vs. 4.69 ng / ml, $p = 0.04$.) No association between sCD40L concentrations and number of thrombosis was found Among patients with primary APS observed trend to higher concentrations of sCD40L in those with obstetric manifestations without statistical significance difference was reached (12.1 ng / ml vs. 8.2 ng / ml, $p = 0.16$)

Conclusions: Patients with primary APS have higher concentrations of platelet sCD40L compared with healthy subjects. No correlation between the number of thrombosis and sCD40L concentrations. Among patients with APS there is a tendency to higher concentrations of sCD40L in patients with obstetric manifestations.

Keywords: sCD40L, thrombosis, platelet activation, antiphospholipid antibodies.

ÍNDICE.

I. RESUMEN

II. ANTECEDENTES

III. MATERIAL Y MÉTODOS

IV. RESULTADOS.

V. DISCUSIÓN

VI. CONCLUSIONES

VII. BIBLIOGRAFÍA

VIII. ANEXOS

Asociación entre las concentraciones séricas de ligando CD40 soluble plaquetario y presencia de trombosis en pacientes con Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos

Primario.

Galicia-López A¹, Olguin-Ortega L¹, Saavedra-Salinas M¹, Medina-García G¹, Méndez-Cruz R², Jimenez-Flores R², Sigrist-Flores S², Díaz-Ceja C², García-de la Peña M¹⁻³.

¹Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional “La Raza”, ²Laboratorio de Inmunología UNAM FES Iztacala. Unidad de Investigación Colegio Mexicano de Reumatología

II. ANTECEDENTES

El síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (SAAF), inicialmente descrito en 1986 por Hughes, Harris y Gharavi (1), es un trastorno trombofílico en el cual se producen anticuerpos contra una variedad de fosfolípidos y proteínas de unión a fosfolípidos (2). Los anticuerpos antifosfolípidos más importantes son: el anticoagulante lúpico (AL), los anticuerpos anticardiolipinas (aCL), y los anticuerpos anti β 2 glucoproteína-I (β 2GPI). (3)

Las manifestaciones clínicas son diversas, pero por definición, para el Consenso Internacional de Criterios de Clasificación para definir el Síndrome Antifosfolípido, un paciente con “síndrome de anticuerpos antifosfolípidos definido” es aquel que presenta títulos altos de anticuerpos antifosfolípidos asociados a una historia de trombosis venosas, arteriales o ambas, o bien morbilidad el embarazo. (4, 5,6).

El común denominador del SAF es la trombosis. El papel patogénico de los anticuerpos antifosfolípidos y su participación en el fenómeno trombótico aún no se han dilucidado por completo. Muchos mecanismos han sido propuestos para explicar la participación de los anticuerpos antifosfolípidos en la patogénesis de esta entidad, incluyendo un incremento en la expresión de factor tisular por células endoteliales y por monocitos. (7, 8, 9).

Por otro lado, se ha postulado que los anticuerpos antifosfolípidos son capaces de inhibir la actividad de la proteína C activada, así como de su cofactor, la proteína S, de la antitrombina, entre otros (10, 11). Se sabe también que los anticuerpos dirigidos contra el tejido decidual y placentario activan la vía clásica del complemento(12,13).

La activación plaquetaria y endotelial constituyen las vías finales del fenómeno trombótico. No hay consenso hasta el momento sobre el papel que juega la activación plaquetaria como mecanismo etiopatogénico en el SAAF, si bien esta se encuentra plenamente demostrada en otros fenómenos inflamatorios cardiovasculares incluyendo la misma aterosclerosis. Un estudio reciente publicado en 2007 evalúa el potencial papel de la activación plaquetaria en pacientes con síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (14). Se incluyeron 88 pacientes positivos a anticuerpos antifosfolípidos. De estos, 60 tenían historia de trombosis. Los 28 restantes pacientes no tenían historia de evento trombótico. La activación plaquetaria fue determinada por medición de micropartículas plaquetarias por citometría de flujo. Las mediciones fueron comparadas con 50 controles sanos. Las concentraciones de micropartículas plaquetarias fueron mayores en aquellos sujetos con antecedente de fenómeno trombótico vs aquellos sin trombosis, y desde luego mayor que en los controles.

La activación plaquetaria hoy en día es considerada un fenómeno fundamental en el desarrollo de aterosclerosis. La aterosclerosis es un fenómeno hoy en día muy vinculado con ciertas entidades como el Lupus Eritematoso Sistémico, y recientemente con el Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos. Así lo sugiere el estudio de Margarita et. Al (15), quienes realizaron mediciones del grosor de la íntima de arterias carótidas en 44 pacientes con Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos Primario, comparados con 25 pacientes con otras trombofilias y con 34 controles sanos. Aunque

el grosor de la íntima fue similar en los 3 grupos de estudio, fue considerablemente mayor en los sujetos con Anticuerpos Antifosfolípidos vs controles sanos.

La vía del CD40/Ligando CD40 (CD40L) ha sido recientemente descrita como un participante fundamental en fenómenos inflamatorios, entre ellos la aterosclerosis. El CD40 es una glucoproteína fosforilada de membrana que pertenece a la familia de receptores del Factor de Necrosis Tumoral. Fue descrito inicialmente en células de carcinoma de vejiga, pero ahora se sabe que también se expresa en linfocitos B, Linfocitos CD4+, monocitos, células dendríticas y células endoteliales, (16).

El ligando CD40 (CD40L), es la contraparte que reconoce al CD40 (16). Se expresa en numerosos tipos celulares destacando los linfocitos T activados, y en diversos tipos celulares implicados en el fenómeno de aterogénesis, principalmente células endoteliales, células de músculo liso, macrófagos y plaquetas. Sin embargo, a diferencia de su contraparte CD40 que se expresa de manera constitutiva sobre la superficie celular, el CD40L se encuentra sintetizado y almacenado en el citoplasma de las células y solo se expresa en la membrana celular tras fenómenos de activación, posterior a lo cual además se libera una fracción soluble a la circulación (sCD40L). Las plaquetas son por mucho, la mayor productora de esta fracción soluble de CD40L (sCD40L), pues se estima que hasta el 95% de las concentraciones de este ligando, son de origen plaquetario. (17) Una vez expresado el CD40L en la membrana, se producen cambios inflamatorios en las células endoteliales, que incluyen la sobre-expresión de moléculas de adhesión celular (E-Selectina, VCAM-1 e ICAM-1), lo cual constituye un evento fundamental en la progresión de la placa aterosclerótica. (18,19)

Los trabajos iniciales sobre el receptor CD40 y su contraparte el ligando CD40, consideraron su expresión limitada a los linfocitos B Y T CD4+ (20) Sin embargo, estudios más recientes han dejado obsoleto el concepto del CD40/CD40L como un

simple cofactor linfocítico funcional en las respuestas inmunes humorales dependientes del timo.

Además de la adhesión de los leucocitos, las interacciones CD40/ CD40L, favorecen una respuesta inmune Th1 sobre sitios de aterosclerosis y por lo tanto, una sobreexpresión de INF γ , una citocina que no solo promueve directamente la respuesta Th1, sino que además incrementa los niveles de CD40, sugiriendo un posible mecanismo de retroalimentación positiva. (21). Es de notar que las interacciones CD40/CD40L aumentan la expresión de IL-1 beta, una citocina proinflamatoria abundantemente expresada en ateromas humanos. (21, 22, y 23.). La unión del CD40L sobre las células endoteliales, células de músculo liso y macrófagos induce la expresión de factor tisular in vivo. (24). La disminución de la expresión de trombomodulina por la unión de CD40L también favorece la perpetuación de un estado procoagulante. (25 y 26)

Desde el punto de vista clínico, la evidencia actual demuestra claramente una fuerte asociación entre la presencia de eventos trombóticos, principalmente coronarios, y el incremento en la expresión de sCD40L

En un estudio se determinaron las concentraciones séricas de esta fracción soluble en 1088 pacientes con síndromes coronarios agudos que previamente habían sido seleccionados para participar en un ensayo clínico controlado que compararía abciximab vs placebo previo a la realización angioplastía. Aunque no era el objetivo primario del estudio, se encontró concentraciones séricas elevadas de sCD40L entre aquellos sujetos que se re-estenosaban a las 24, 72 horas, al mes y a los 6 meses con independencia de la terapéutica empleada. (27)

En un estudio de casos y controles, Shönbeck y colaboradores, (28) determinaron las concentraciones de sCD40L en mujeres adultas encontrando que las

concentraciones de este ligando eran mucho más elevadas en aquellas mujeres con eventos cardiovasculares, incluyendo enfermedad vascular cerebral a 4 años de seguimiento vs aquellas mujeres de la misma edad sin eventos cardiovasculares conocidos.

Aún más, Turkey y colaboradores determinaron las concentraciones de la fracción soluble de CD40 en 36 pacientes con angina estable previo a la colocación de un stent, al mes y a los seis meses de la colocación del mismo, encontrando evidencia angiográfica de re-estenosis en el 27% de los pacientes. Las concentraciones plasmáticas de sCD40L fueron significativamente más altas entre los pacientes que sufrieron re-estenosis vs. aquellos que no la presentaron. (29)

Con respecto al papel que juega esta vía recientemente descrita en el Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos, es muy poco lo que se ha realizado al momento y con resultados inconsistentes. La mayoría de estos estudios han incluido a pacientes que tienen asociado alguna otra enfermedad como el Lupus Eritematoso Sistémico. Destaca el estudio de Aleksandrova y colaboradores (30) en el que se determinaron concentraciones plasmáticas de sCD40L en 21 pacientes con síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos Primario, en 25 pacientes con Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos asociado con Lupus Eritematoso Sistémico, en 92 pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico, y en 16 personas sanas. Las mayores concentraciones se documentaron en pacientes con SAAF secundario y en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (30). En un estudio de casos y controles, Gresele y colaboradores (31) compararon 20 pacientes con SAAF primario con 39 controles sanos, mediante la realización de prueba de vasodilatación arterial mediada por flujo y mediante la determinación de varios marcadores inflamatorios, entre ellos el sCD40L, sin diferencias significativas en ambos grupos.

Es claro que las interacciones CD40/CD40L constituyen un evento fundamental en la iniciación y progresión de lesión aterosclerótica. Es lógico pensar que la inhibición de esta vía conlleva importantes beneficios. No se ha estudiado si el Síndrome de Anticuerpos antifosfolípidos es una entidad en la cual pudiese participar la vía CD40/CD40L, como mecanismo patogénico, sin embargo, dado la cada vez mayor evidencia de la participación de aterogénesis acelerada en esta entidad, parece prudente considerar a esta vía como un potencial mecanismo patogénico adicional.

Por tal motivo, nosotros realizamos un estudio transversal, descriptivo, comparativo y observacional que tuvo como objetivo determinar cuáles son las concentraciones plasmáticas medias de sCD40L plaquetario en pacientes con SAF primario en comparación con un grupo control de sujetos sanos, y, en caso de encontrar mayores concentraciones en los pacientes con SAF, determinar si el incremento en las concentraciones de sCD40L plaquetario se asocian con mayor número de trombosis.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el Hospital de Especialidades “Dr Antonio Fraga Mouret” del Centro Médico Nacional La Raza, en el servicio de Consulta Externa de Reumatología. Se incluyeron a pacientes con SAF primario pertenecientes a dicha consulta, los cuales cumplieron los siguientes criterios de selección: edad igual o mayor de 18 años y que reunieron criterios para catalogarlos como SAF primario de acuerdo a los criterios revisados del 2006, y que tuvieron documentado al menos un episodio de trombosis. Se excluyeron pacientes con SAF secundario, con antecedente de cardiopatía coronaria o trombosis no relacionada con SAF, así como a pacientes diabéticos, con antecedente de cirugía mayor y/o evento trombotico documentado en los 3 meses previos a su inclusión en el estudio.

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Se formaron tres grupos de estudio para su análisis; el primero consistió en un grupo control formado por personas sanas con características demográficas similares a los grupos de estudio. Estas personas fueron comparables al resto de los grupos de estudio en términos de edad, género, y por definición no tuvieron enfermedad alguna conocida al momento de ingresar al estudio.

El grupo dos estuvo formado por aquellos pacientes con SAF primario y que presentaron al momento de su inclusión al estudio un episodio de trombosis, el grupo tres estuvo formado por aquellos pacientes con SAF primario y con antecedente de al menos dos o más episodios de trombosis.

Una vez que aceptaron ingresar al estudio y previa firma de consentimiento informado, a cada uno de los pacientes se les tomó una única muestra de 5 ml de sangre en tubo

seco para la determinación de sCD40L. Se centrifugó el suero y posteriormente este se almacenó a una temperatura de 2 a 8 grados centígrados. La determinación de sCD40L se realizó mediante ELISA en el laboratorio de Inmunología de la Escuela de Medicina de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala.

ANALISIS ESTADÍSTICO

Se calculó un tamaño de muestra mediante la fórmula de diferencia de proporciones para variable cualitativa, con base en el porcentaje de pacientes con Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos Secundario que se ha encontrado que muestran un incremento en los niveles de CD40L soluble vs pacientes sanos. Se calculó el tamaño de la muestra con una potencia de 80 por ciento y una significancia estadística de 95% de dos colas.

Se realizó estadística descriptiva para las variables demográficas, así como una comparación de medias de las concentraciones séricas de sCD40L en los diferentes grupos por medio de ANOVA.

Por otro lado los pacientes fueron agrupados en quintiles según las concentraciones séricas de sCD40L reportadas recientemente por la literatura y posteriormente se realizó igualmente la prueba de ANOVA de una vía para comparar la media de los episodios de trombosis entre cada uno de los grupos

Se empleó el programa estadístico SPSS versión 11

IV RESULTADOS.

Se incluyeron un total de 69 pacientes en el estudio: 22 sujetos en el grupo control, 23 pacientes en el grupo de pacientes con SAF primario y < de 2 trombosis, y 24 pacientes en el grupo de pacientes con SAF primario y > de dos trombosis documentadas.

En el grupo de SAF primario y > de 2 trombosis documentadas, la media de eventos trombóticos fue de 3.2 por paciente. En cuanto al sexo, edad, e índice de masa corporal, los 3 grupos fueron homogéneos sin diferencias estadísticamente significativas. Los títulos de anticuerpos anticardiolipinas IgG e IgM tanto al momento del diagnóstico y en la actualidad fueron mayores en el grupo de pacientes con SAF con < 2 trombosis sin ser estadísticamente significativo. (Tabla 1.)

En el grupo con menos de dos trombosis, 7 pacientes (30.4%) tuvieron antecedente de abortos en el primer trimestre, en tanto que en el grupo con más de dos trombosis, 5 pacientes (20.8%) tuvieron tal antecedente.

Por otra parte, las manifestaciones de microangiopatía estuvieron presente con alta frecuencia en los pacientes con SAF: 73.9% en el grupo de menos de dos trombosis, así como 54.1% en el grupo con más de dos trombosis. (Tabla 2)

La valvulopatía fue la manifestación no trombótica que con mayor frecuencia se observó en estos pacientes, siendo las insuficiencias valvulares de diverso grado las más prevalentes. Le siguieron en orden de frecuencia la nefropatía por SAF, manifestaciones cutáneas incluyendo el livedo reticularis y úlceras cutáneas, así como la trombocitopenia. Algunos pacientes documentaron más una manifestación no trombótica, generalmente nefropatía por SAF, trombocitopenia y/o valvulopatía Un paciente con antecedente de múltiples manifestaciones microangiopáticas tiene historia además de infartos intestinales.

Tabla-1 Características demográficas de los pacientes				
Variable	SAF <2 Trombosis	SAF >2 trombosis	Grupo Control	Valor p
	(n=23)	(n=24)	(n=22) (%)	
Sexo Femenino —no(%)	19(82)	20 (83)	17 (77)	0.85
Sexo Masculino—no(%)	4 (18)	4 (17)	5 (23)	0.85
Edad—años	41.83	40.83	40.05	0.87
IMC	27.75	27.17	27.45	0.65
No. Abortos	0.78	0.37	-----	0.19
Títulos de Acl IgG al inicio	50.25	34.38	-----	0.43
Títulos de Acl IgM al inicio	44.5	15.17	-----	0.82
Títulos de Acl IgG actuales	47.28	45.95	-----	0.94
Títulos de Acl IgM actuales.	29.44	17.54	-----	0.38
Manifestaciones no trombóticas (%)	17 (73.9)	13 (54.1)	-----	0.15

Tabla 2. Manifestaciones no trombóticas en pacientes con SAF primario		
Manifestación. No-%	< 2 trombosis	>2 trombosis
Nefropatía por SAF.	5 (21.7)	3 (12.5)
Trombocitopenia	2 (8.6)	4 (16.6)
Valvulopatía	7 (30.4)	8 (33.3)
Livedo/úlceras	6 (26)	3 (12.5)
Infartos intestinales	0	1 (4.16)

En cuanto a la comparación entre las concentraciones séricas de ligando CD40 soluble plaquetario en pacientes con SAF primario vs controles sanos, las concentraciones séricas de dicho ligando fueron mayores en el primer grupo con significancia estadísticamente significativa. (Tabla 3) (Figura 1).

Tabla-3 Concentraciones séricas de sCD40L plaquetario			
Variable	Grupo SAF	Grupo Control	Valor p
	(n=47)	(n=22)	
sCD40L (ng/ml) (concentración media)	9.72	4.69	0.04

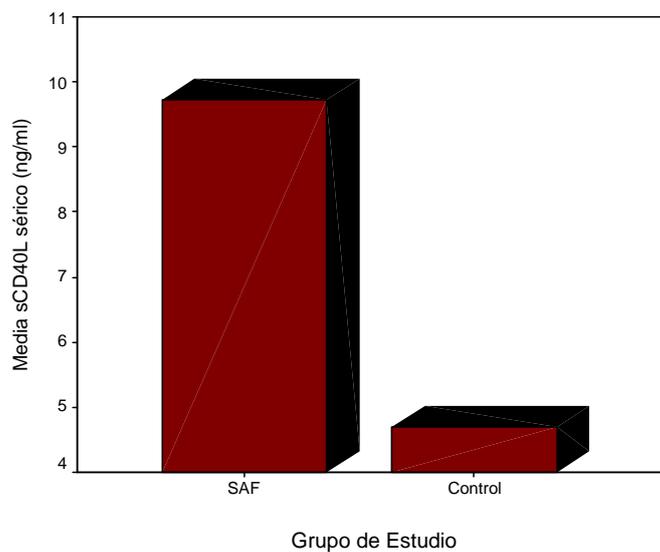


FIGURA 1. Concentraciones séricas de ligando CD40 soluble plaquetario en pacientes con SAF primario y sujetos sanos.

Sin embargo, cuando se realizó la comparación sobre las concentraciones séricas de ligando CD40 soluble plaquetario entre los grupos de SAF (< de 2 trombosis, > de 2

trombosis), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. (Tabla 4)
(Figura 2).

Tabla-4 Concentraciones séricas de s CD40L plaquetario en pacientes con SAF primario				
Variable	SAF <2 Trombosis	SAF >2 trombosis	Grupo Control	Valor p
	(n=23)	(n=24)	(n=22)	
sCD40L (ng/ml)	9.81	9.63	4.69	0.13

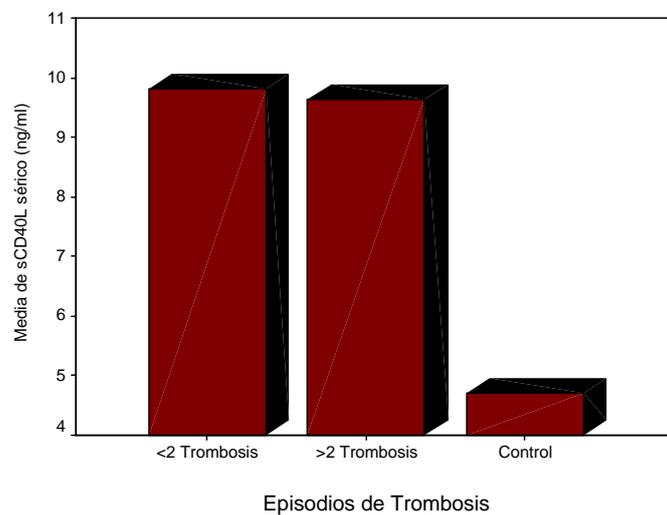


FIGURA 2. Concentraciones séricas de sCD40L plaquetario de acuerdo al número de trombosis en pacientes con SAF primario

Para determinar si existe correlación entre las concentraciones séricas del sCD40L plaquetario y el número de trombosis en pacientes con SAF primario se agruparon las concentraciones del ligando en percentilas, cuyos rangos fueron determinados en base a recientes reportes en la literatura que reportan las concentraciones promedio de este

ligando en población sana adulta. La distribución de las percentilas fueron las siguientes: (Tabla 5)

Tabla-5. Distribución en percentilas de las concentraciones de sCD40L plaquetario	
Percentila 5th	0- 2.32 ng/ml
Percentila 25th	2.33- 5.71 ng/ml
Percentila 50th	5.72- 10.74 ng/ml
Percentila 75th	10.75- 25.6 ng/ml
Percentila95 th	25.7 o más ng/ml

No se documento asociación entre las concentraciones de sCD40L plaquetario y el número de trombosis en pacientes con SAF primario (Figura 3).

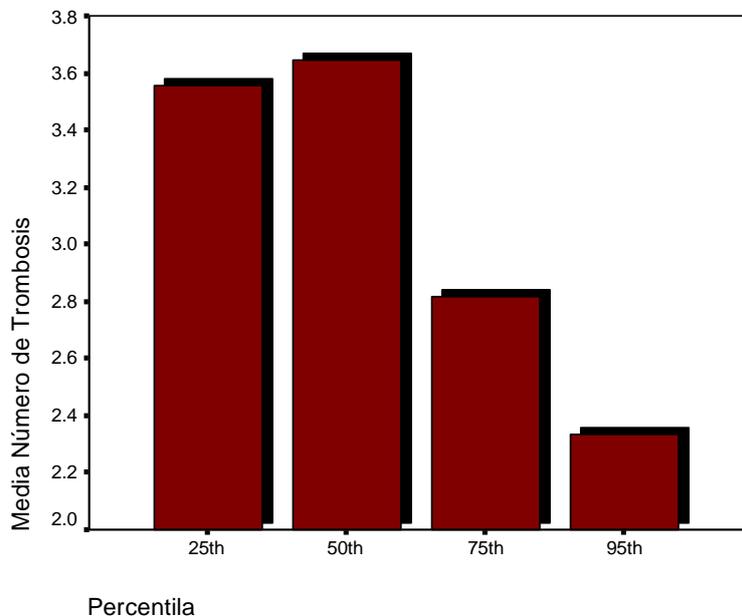


FIGURA 3. Número de trombosis de acuerdo a las concentraciones séricas de s CD40L plaquetario

Un hallazgo que llamo la atención, aunque no alcanzó significancia estadística, fue el hecho de que las concentraciones séricas de ligando sCD40L plaquetario estuvieron considerablemente incrementadas en pacientes con antecedentes de manifestaciones obstétricas, específicamente abortos del primer trimestre. Las concentraciones de este ligando fueron mayores en pacientes con antecedente de SAF obstétrico vs aquellas sin antecedentes obstétricos y fueron mayores en comparación con sujetos controles ($p=0.16$) (Figuras 4 y 5).

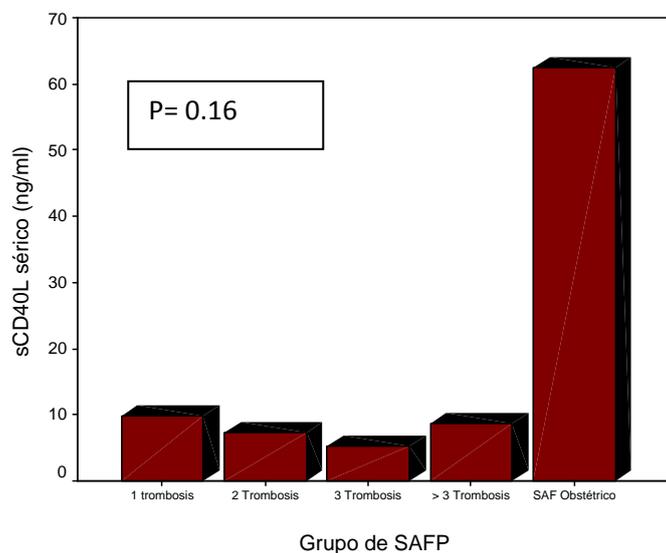


FIGURA 4. Concentraciones de sCD40L plaquetario en pacientes con SAF primario de acuerdo a tipo de manifestación

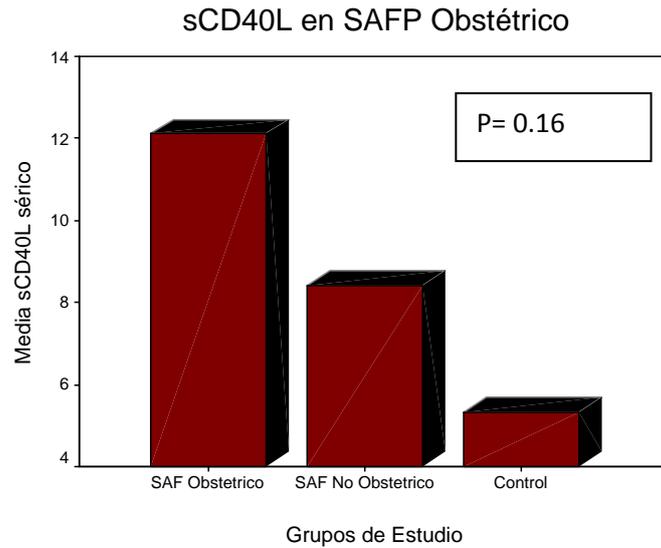


FIGURA 5. Concentraciones de sCD40L plaquetario en pacientes con SAF primario con y sin manifestaciones obstétricas

Cuando se realizó la comparación entre las concentraciones de sCD40L plaquetario entre pacientes con SAF primario con manifestaciones de microangiopatía vs aquellos sin manifestaciones no trombóticas las concentraciones del ligando fueron mayores en este último grupo de pacientes.

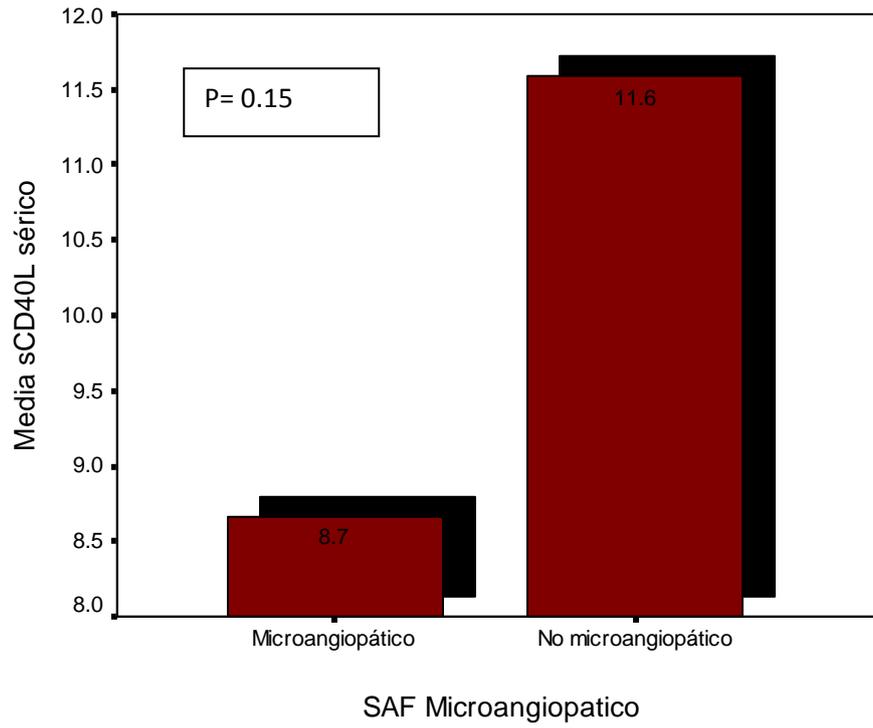


FIGURA 6. Concentraciones de s CD40L plaquetario en pacientes con SAF primario de acuerdo a presencia o ausencia

V. DISCUSION

El SAF es un trastorno caracterizado por trombosis de repetición, aunado o no a manifestaciones obstétricas, y relacionado con la presencia de anticuerpos dirigidos contra fosfolípidos de membrana o proteínas de unión a fosfolípidos.

Múltiples mecanismos patogénicos han sido propuestos para explicar la alta incidencia de eventos trombóticos y la activación plaquetaria constituye uno de ellos. En este sentido se sabe que la plaqueta tiene un papel fundamental en la hemostasia primaria, pues se adhiere a la pared vascular, para posteriormente, tras su activación, provocar un arreglo en la expresión de fosfolípidos y proteínas de membrana que transforman a la plaqueta en una superficie altamente trombogénica. Algunos estudios han sido realizados en pacientes con Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos tanto primario como secundario, los cuales han sido diseñados para demostrar participación plaquetaria a través de la medición de marcadores de activación como el CD62 p (P-selectina), o micropartículas plaquetarias aunque con resultados inconsistentes. (14)

La vía del CD40 y su contraparte, ligando CD40 (CD40L) ha sido recientemente descrita como un mecanismo patogénico en fenómenos de aterosclerosis . Se sabe que la activación plaquetaria por esta vía conlleva a fenómenos trascendentales en la progresión del fenómeno trombótico como la expresión de moléculas de adhesión celular, activación endotelial y de macrófagos, entre otros. La activación de esta vía esta plenamente identificada en fenómenos ateroscleróticos como el infarto agudo al miocardio y la enfermedad vascular cerebral. (27, 28, 29)

La contribución de este estudio, radica en investigar si la vía del CD40/CD40L tiene algún papel patogénico en el SAF primario. Trabajos previos publicados en la literatura sugieren la participación de esta vía en el SAF secundario. (30). Nuestro trabajo se

fundamentó en la determinación de la fracción soluble del ligando CD40L cuya producción se lleva a cabo en su mayor parte a nivel plaquetario y en determinar si las mayores concentraciones de este ligando se asociaron con mayor número de trombosis. Estudios transversales previos determinaron las concentraciones del ligando en varios subgrupos de pacientes: en controles sanos, en pacientes con SAF primario y en pacientes con SAF secundario, encontrando que las concentraciones de sCD40L son mayores en este último grupo. (30) En este estudio nos enfocamos únicamente al SAF primario, puesto que se sabe el riesgo cardiovascular *per se* que conlleva la coexistencia de otra enfermedad como el LES. Además es el primer estudio que busca correlación entre las concentraciones de sCD40L plaquetario y el número de trombosis en estos pacientes. De manera general, nuestro estudio demostró que las concentraciones del sCD40L plaquetario son significativamente mayores en sujetos con SAF primario vs sujetos controles sanos, pero no se encontró asociación con un mayor número de eventos trombóticos. Lo anterior sugiere que aunque los pacientes con SAF primario tienen mayor grado de activación plaquetaria vía CD40L/CD40L, al parecer esto no explica el fenómeno de recurrencia en el fenómeno trombótico que tienen estos pacientes. Las razones pueden ser varias: en primer lugar, cuando se establece el diagnóstico de SAF en un paciente, se le inicia tratamiento anticoagulante de inmediato con el fin de evitar recurrencia de trombosis. Buena parte de nuestros pacientes son diagnosticados en el primer evento de trombosis (en este caso asociado con manifestaciones no trombóticas u obstétricas), de tal forma que desde su diagnóstico se encuentran en tratamiento anticoagulante generalmente con INR en rangos terapéuticos, esto puede contribuir a la no recurrencia de eventos trombóticos. Por otro lado es bien sabido que en el SAF los mecanismos patogénicos son numerosos, y frecuentemente coexisten, por lo que es posible que en estos pacientes algunos otros mecanismos

diferentes a la activación plaquetaria por esta vía son los que predominan y los que favorecen directamente las trombosis. En segundo lugar, es probable que las concentraciones de sCD40L plaquetario se encuentren incrementadas en este grupo de pacientes por la aterosclerosis acelerada que frecuentemente se observa en ellos. La mayor parte de nuestros pacientes tienen algún grado de obesidad y/o sobrepeso e incluso buena parte de ellos cumplen criterios para catalogarlos con síndrome metabólico.

Previamente han sido descrito numerosos mecanismos potenciales capaces de justificar la elevada frecuencia de aterosclerosis acelerada en los pacientes con SAF, entre los que destacan: aumento del estrés oxidativo, presencia de autoanticuerpos dirigidos contra partículas LDL oxidadas, aumento en la captación de LDL dentro de los macrófagos inducida por anticuerpos anti β 2 Glicoproteína I etc. Es posible que en estos pacientes, la activación plaquetaria a través de la vía CD40/CD40L sea un mecanismo adicional que contribuya a la aterosclerosis acelerada que se observa en pacientes con SAF, y si bien es cierto que su activación no justifica la presencia de trombosis de una manera directa, es posible que si lo haga de manera indirecta a través de mecanismos que favorecen la progresión de lesiones ateroscleróticas como son: activación endotelial, aumento en las moléculas de adhesión celular, incremento en las concentraciones de citocinas inflamatorias y trombogénicas, etc.

Existen estudios previos que apoyan nuestra hipótesis, como el realizado recientemente por Gresele et. al (31), quienes determinaron diversos marcadores de disfunción endotelial, incluyendo sCD40L plaquetario en pacientes con SAF primario, a quienes estratificaron de acuerdo a la presencia o ausencia de factores de riesgo cardiovascular asociados. Encontraron que las mayores concentraciones de sCD40L plaquetario, y de otros marcadores disfunción endotelial que incluyeron prueba de vasodilatación

mediada por flujo se encuentran presentes en los pacientes con SAF y factores de riesgo cardiovasculares agregados. A la luz de los hallazgos encontrados en otros estudios, incluyendo el nuestro, sería interesante en un futuro trabajo con nuestra cohorte de pacientes, encontrar asociación entre las concentraciones séricas de sCD40L plaquetario con hallazgos reportados en estudios de imagen y que se sabe correlacionan en forma positiva con aterosclerosis acelerada. (por ejemplo, grosor de la íntima carotídea o prueba de vasodilatación mediada por flujo con Ultrasonido doppler).

Un hallazgo inesperado y que es necesario destacar, fue el hecho de documentar mayores concentraciones de sCD40L en pacientes con SAF y antecedentes de abortos y/o pérdidas fetales, vs aquellas pacientes con SAF y sin estos antecedentes. Sin embargo, los resultados no fueron estadísticamente significativo y esto puede deberse a que la gran mayoría de pacientes femeninos incluidos no tenían antecedentes de morbilidad obstétrica. Sin embargo llama mucho la atención considerando que en el caso de SAF obstétrico, la trombosis placentaria no es un hallazgo encontrado de manera constante. En este tipo de manifestación, mecanismos como la activación de la vía clásica del complemento, deficiencia en ciertas proteínas como anexina V, y disfunción endotelial son los que han sido estudiados. Dado nuestro hallazgo, cabría preguntarse si la activación plaquetaria, y específicamente aquella desencadenada por la activación de la vía CD40/CD40L, pudiera jugar algún papel patogénico en las manifestaciones obstétricas inducidas por SAF.

Nuestro estudio tiene algunas limitaciones: en primer lugar el tamaño de muestra, lo cual puede justificar que muchos de los hallazgos documentados no alcanzaron diferencia estadísticamente significativa. Esto se debe a que en nuestro centro hospitalario es mayor el número de pacientes con SAF secundario que primario. En segundo lugar, al ser un estudio transversal, se realizó la medición del sCD40L

plaquetario al momento de ingresar el paciente al estudio. Es posible de esta manera que la asociación entre las concentraciones del ligando y la presencia del evento trombótico se encuentre infra valorada, dado que la temporalidad entre el primer y último evento trombótico es altamente variable en nuestra cohorte de pacientes. Incluso existen algunos pacientes que han manifestado solamente un evento de trombosis y este se presentó hace más de una década. Lo ideal sería uniformar el rango de presentación entre el evento trombótico y la determinación del ligando, si bien esto implicaría un diseño longitudinal y de seguimiento por un período de tiempo prolongado. Desde luego la tercera limitante es nuestro estudio fue el pequeño porcentaje de pacientes con manifestaciones obstétricas, lo cual puede explicar porque el hallazgo de las mayores concentraciones de sCD40L en pacientes obstétricas no alcanzó diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo este hallazgo deja una interrogante interesante, esto es, investigar en un futuro si la activación plaquetaria vía CD40/sCD40L pudiera tener importancia en este tipo de manifestación.

Finalmente, cabe mencionar la elevada frecuencia de manifestaciones no trombóticas que se encuentran en la cohorte de pacientes con SAF en nuestro centro hospitalario. El SAF microangiopático es una entidad de descripción reciente y que se refiere a la presencia de manifestaciones no relacionada con trombosis de grandes vasos. En este tipo de manifestaciones, la microangiopatía, la microtrombosis y la disfunción endotelial son el común denominador. Al ser una entidad nueva, se desconocen aún cuales son los mecanismos patogénicos involucrados en este tipo de manifestaciones. El número de pacientes con manifestaciones no trombóticas fue relativamente pequeño en nuestro estudio, en comparación con la totalidad de pacientes incluidos, lo cual no nos permite establecer alguna conclusión al respecto, sin embargo, cabría interrogarse si

la activación plaquetaria, sea por esta vía u otra conocida, juegan un papel relevante en la aparición de este tipo de manifestaciones.

VI. CONCLUSIONES.

En pacientes con Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos Primario, se encontró un incremento en las concentraciones plasmáticas de sCD40L plaquetario en comparación con sujetos controles sanos.

Por lo tanto, existe mayor grado de activación plaquetaria vía CD40/CD40L en pacientes con SAF primario vs sujetos controles sanos.

El incremento de concentraciones de sCD40L plaquetario no se asoció con aumento en el número de trombosis en pacientes con SAF primario

Se encontró una tendencia a concentraciones plasmáticas más elevadas de sCD40L plaquetario en pacientes con manifestaciones obstétricas, por lo que es posible que la activación plaquetaria vía CD40 / CD40L represente un mecanismo patogénico en SAF obstétrico que deberá investigarse en un futuro.

VII. BIBLIOGRAFIA

1. Hughes G, Harris EN, Gharavi A. The anticardiolipin syndrome. *J Rheumatol* 1986; 13: 486-9.
2. Levin JS, Branch DW, Rauch J. The antiphospholipid syndrome. *N Eng J Med* 2002; 346 (10): 752-63.
3. Miyakis S, et. al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Tromb Haemost* 2006; 4: 295-306.
4. William F. Baker Jr, Rodger L. The clinical spectrum of antiphospholipid syndrome. *Hematol Oncol Clin N Am* 2008; 22: 33-52.
5. Asherson R, Khamashta, Ordi-Ros J. The “primary” antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68:366-74.
6. Whal DG, et. al. Risk for venous thrombosis related to antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus: a meta analysis. *Lupus* 1997; 6: 467-73.
7. López-Pedrera Ch. et. al. Antiphospholipid syndrome and tissue factor: a thrombotic couple. *Lupus* 2006; 15: 161-166

8. Nemerson Y. Tissue factor and hemostasis. *Blood* 1998; 71:1-12
9. Cuadrado MJ. et. al. Thrombosis in primary antiphospholipid syndrome. A pivotal role for monocyte tissue factor expression. *Arthritis Rheum* 1997;40: 834-841.
10. Salmon JE, de Groot PG. Pathogenic role of antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2008; 17: 405-411
11. Lutters BC, Meijers JC, Derksen RH. Dimers of beta 2-glycoprotein I mimic the in vitro effects of beta 2- glycoprotein I-Anti-beta 2 glycoprotein I antibody complexes. *J Biol Chem* 2001; 276: 3060-3067.
12. Red- Horse K. et. al. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J Clin Invest* 2004; 114: 744-754
13. Ferrara N. et. al. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9:669-676
14. Wenche Jy. et. al. Platelet activation rather than endothelial injury identifies risk of thrombosis in subject positive for antiphospholipid antibodies. *Thrombosis Research*. 2007; 121: 319-325.
15. Margarita A. et. al. Subclinical atherosclerosis in primary antiphospholipid syndrome. *Ann N.Y. Acad. Sci* 2007; 1108: 475-480.

16. Grewal JS, Flavel RA. CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. *Ann Rev.Immunol* 1998; 16 : 111-35
17. Schönbeck U, Libby P. CD40 Signaling and Plaque Instability. *Cir Res* 2001;89: 1092-1113.
18. Davi G, Patrono C. Platelet Activation and Atherothrombosis. *N Eng J Med* 2007; 357: 2482-94.
19. Hollenbaugh D. et. al. Expression of functional CD40 by vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1995; 182: 33-40
20. Mills DM, JC Cambier. B lymphocyte interactions during cognate interactions with CD4+ T lymphocytes: molecular dynamics and immunological consequences. *Semin Immunol* 2003; 15:325-329
21. Bruemmer D. et. al. Expression of CD40 in vascular smooth muscle cells and macrophages is associated with early development of human atherosclerotic lesions. *Am J Cardiol* 2001; 87: 21-27
22. Musso T. et. al. Human monocytes constitutively express membrane-bound, biologically active, and interferon γ - upregulated interleukin 15. *Blood* 1999; 93:3531-3539.

23. Schönbeck U. et. al. Ligation of CD40 activates interleukin 1 β - converting enzyme (caspase-1) activity in vascular smooth muscle and endothelial cells and promotes elaboration of active interleukin 1 β . *J Biol Chem* 1997, 272: 19569-19574
24. Melter M. et al. Ligation of CD40 Induces the expression of vascular endothelial growth factor by endothelial cells and monocytes and promotes angiogenesis in vivo. *Blood* 2000; 96: 3801-3808.
- 25- Schönbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58:4-43.
26. Mach F. et. al. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin and tissue factor. *Circulation* 1997, 96: 396-99.
27. Heeschen C. et al. Soluble CD40 Ligand in Acute Coronary Syndromes. *N Eng J Med* 2003; 348:1104-11
28. Schönbeck U. et. al. Soluble CD40L and cardiovascular risk in women. *Circulation* 2001; 104:2266-22-68
29. Turkey S. et. al. Usefulness of Preprocedural Soluble CD40 Ligand for Predicting Reestenosis After Percutaneous Coronary Intervention in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* 2006; 97: 198-202.

30. Aleksandrova EN. et. Al. Soluble CD40 ligand in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. Ter Arkh 2006; 78 (6): 35-9.

31. Gresele P, Migliacci R, Vedovati M.C. Patients with primary antiphospholipid antibody syndrome and without associated vascular risk factors present a normal endothelial function. Thrombosis Research.2009; 123: 444-451

32. Abbas A, Lichtman A, Pillai Sh. Celular and Molecular Immunology 6a. Ed. Barcelona, España. 2008

33. Cholette J, et, al. Development Changes in Soluble CD40 Ligand. J Pediatr 2008;152 (1):50-54

VIII. ANEXOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO

INFORME AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO: Asociación entre las concentraciones séricas de Ligando CD40 soluble plaquetario y riesgo de trombosis en pacientes con síndrome de anticuerpos antifosfolípidos primario

PROTOCOLO No:

INVESTIGADORES: Dra. Aida Galicia López

TELEFONO: 5519161851

Yo, _____ con número de afiliación _____, acepto participar en el estudio “asociación entre las concentraciones séricas de Ligando CD40 soluble plaquetario y riesgo de trombosis en pacientes con síndrome de anticuerpos antifosfolípidos primario” con número de registro ante el Comité de Investigación del HECMR _____

CENTRO: Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional La Raza

Antes de que usted decida tomar parte en este estudio de investigación, es importante que lea, cuidadosamente, este documento. Su médico discutirá con usted el contenido de este informe, y le explicará todos aquellos puntos en los que tenga dudas. Si después de haber leído toda la información usted decide participar en este estudio, deberá firmar este consentimiento en el lugar indicado y devolverlo a su médico. Usted recibirá una copia de este consentimiento informado.

Objetivos del estudio

A usted se le ha pedido que participe en un estudio de investigación que tiene por objetivo determinar unas moléculas en su sangre que pueden estar relacionadas con

fenómenos de oclusión de vasos sanguíneos en personas que sufren de síndrome de anticuerpos antifosfolípidos.

Procedimiento a seguir

Si usted acepta participar en este estudio se le realizará un examen físico y unos estudios de laboratorio. Se le tomará una única muestra de sangre al inicio del estudio.

No se le realizará ninguna otra intervención.

Su tratamiento no será modificado.

Es importante que sepa que no es necesaria su participación en el estudio para el control de su enfermedad.

Exclusiones

Si usted cuenta con algunas de estas condiciones no podrá participar en el estudio:

En tratamiento con los siguientes fármacos. (pioglitazona, troglitazona, rosiglitazona)

Angina inestable o infarto del miocardio durante las 4 semanas previas

Lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide

Cirugía mayor reciente en las 2 semanas previas.

Riesgos de participar en el estudio:

Ninguno en términos del tratamiento de su enfermedad. Solo la formación de hematoma secundario a la punción venosa para la obtención de muestra.

Beneficios para los participantes

Puede obtenerse conocimiento del estado de inflamación de los vasos sanguíneos en su persona y con ello posiblemente se añadan algunas recomendaciones a su estilo de vida.

Remuneración por su participación en el estudio

No existe ninguna remuneración económica por su participación en este estudio.

Confidencialidad

A menos que la ley lo exija, solo el investigador y colaboradores tendrán acceso a los datos confidenciales que lo identifican a usted por su nombre, su identificación no aparecerá en ningún informe ni publicación resultante del presente estudio.

Nuevos hallazgos

Se le informará sobre cualquier nuevo hallazgo importante que se documente durante el estudio que pudiera afectar su voluntad de continuar participando en el.

Contactos

El investigador o la persona que el designe ha contestado todas sus preguntas. Si usted tiene preguntas adicionales durante el estudio acerca de la investigación o de sus derechos como sujeto de investigación, puede dirigirse a: Dra. Aida Galicia López en el 7º piso del HE CMN La Raza. En caso de lesión relacionada con la investigación o de cualquier otro problema, sírvase comunicarse con Dra. Aida Galicia López al teléfono 53 92 86 83

Participación voluntaria

Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede negarse a participar o puede interrumpir su participación en cualquier momento durante el estudio, sin perjuicio alguno ni pérdida de sus derechos. Si decide interrumpir su participación, puede recibir el resto de su tratamiento sin perjuicio alguno de su tratamiento médico o de participación en estudios futuros. Además, el investigador puede dar por terminada su participación, independiente de su consentimiento, si usted requiere medicamentos no permitidos ha violado el protocolo de estudio.

Consentimiento

He leído y entendido este consentimiento informado. He recibido respuesta a todas mis preguntas. Acepto voluntariamente participar en este estudio.

Al firmar esta fórmula no estoy renunciando a mis derechos legales que de todas maneras tengo como participante en un estudio de investigación

_____	_____	_____
Nombre del participante	Firma	Fecha

_____	_____	_____
Nombre del testigo	Firma	Fecha

_____	_____	_____
Nombre del investigador	Firma	Fecha

Declaración de Helsinki.

Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos
(DECLARACIÓN DE HELSINKI DE LA ASOCIACIÓN MÉDICA MUNDIAL)

Introducción

Principios básicos para toda investigación médica

Principios aplicables cuando la investigación médica se combina con la atención médica

A. INTRODUCCIÓN

1. La Asociación Médica Mundial ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos que sirvan para orientar a los médicos y a otras personas que realizan investigación médica en seres humanos. La investigación médica en seres humanos incluye la investigación del material humano o de información identificables.

2. El deber del médico es promover y velar por la salud de las personas. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.

3. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe actuar solamente en el interés del paciente al proporcionar atención médica que pueda tener el efecto de debilitar la condición mental y física del paciente". La investigación biomédica en seres humanos debe ser realizada solamente por personas científicamente calificadas, bajo la

supervisión de una persona médica con competencia clínica. La responsabilidad por el ser humano siempre debe recaer sobre una persona con calificaciones médicas, nunca sobre el individuo sujeto a investigación, aunque éste haya otorgado su consentimiento.

4. El progreso de la medicina se basa en la investigación, la cual, en último término, tiene que recurrir muchas veces a la experimentación en seres humanos.

5. En investigación médica en seres humanos, la preocupación por el bienestar de los seres humanos debe tener siempre primacía sobre los intereses de la ciencia y de la sociedad.

6. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es mejorar los procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos, y también comprender la etiología y patogenia de las enfermedades. Incluso, los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles deben ponerse a prueba continuamente a través de la investigación para que sean eficaces, efectivos, accesibles y de calidad.

7. En la práctica de la medicina y de la investigación médica del presente, la mayoría de los procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos implican algunos riesgos y costos.

8. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales. Algunas poblaciones sometidas a la investigación son vulnerables y necesitan protección especial. Se deben reconocer las necesidades particulares de los que tienen

desventajas económicas y médicas. También se debe prestar atención especial a los que no pueden otorgar o rechazar el consentimiento por sí mismos, a los que pueden otorgar el consentimiento bajo presión, a los que se beneficiarán personalmente con la investigación y a los que tienen la investigación combinada con la atención médica.

9. Los investigadores deben conocer los requisitos éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que los requisitos internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico disminuya o elimine cualquiera medida de protección para los seres humanos establecida en esta Declaración.

Introducción

Principios básicos para toda investigación médica

Principios aplicables cuando la investigación médica se combina con la atención médica

■ B. PRINCIPIOS BÁSICOS PARA TODA INVESTIGACIÓN MÉDICA

10. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la intimidad y la dignidad del ser humano.

11. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados, y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea

oportuno. Cuando el menor de edad puede en efecto dar su consentimiento, éste debe obtenerse además del consentimiento de su tutor legal.

12. Al investigar, hay que prestar atención adecuada a los factores que puedan perjudicar el medio ambiente. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

13. El proyecto y el método de todo procedimiento experimental en seres humanos debe formularse claramente en un protocolo experimental. Este debe enviarse, para consideración, comentario, consejo, y cuando sea oportuno, aprobación, a un comité de evaluación ética especialmente designado, que debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida. Se sobreentiende que ese comité independiente debe actuar en conformidad con las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación experimental. El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. El investigador también debe presentar al comité, para que la revise, la información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, otros posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio.

14. El protocolo de la investigación debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso, y debe indicar que se han observado los principios enunciados en esta Declaración.

15. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas científicamente calificadas y bajo la supervisión de un médico clínicamente competente. La responsabilidad de los seres humanos debe recaer siempre en una persona con capacitación médica, y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

16. Todo proyecto de investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos calculados con los beneficios previsibles para el individuo o para otros. Esto no impide la participación de voluntarios sanos en la investigación médica. El diseño de todos los estudios debe estar disponible para el público.

17. Los médicos deben abstenerse de participar en proyectos de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos inherentes han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Deben suspender el experimento en marcha si observan que los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados positivos o beneficiosos.

18. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo inherente y los costos para el individuo. Esto es especialmente importante cuando los seres humanos son voluntarios sanos.

19. La investigación médica sólo se justifica si existen posibilidades razonables de que la población, sobre la que la investigación se realiza, podrá beneficiarse de sus resultados.

20. Para tomar parte en un proyecto de investigación, los individuos deben ser participantes voluntarios e informados.

21. Siempre debe respetarse el derecho de los participantes en la investigación a proteger su integridad. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de los individuos, la confidencialidad de la información del paciente y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física y mental y su personalidad.

22. En toda investigación en seres humanos, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento. La persona debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido la información, el médico debe obtener entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede obtener por escrito, el proceso para obtenerlo debe ser documentado formalmente ante testigos.

23. Al obtener el consentimiento informado para el proyecto de investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En un caso así, el consentimiento informado debe ser obtenido por un médico bien informado que no participe en la investigación y que nada tenga que ver con aquella relación.

24. Cuando la persona sea legalmente incapaz, o inhábil física o mentalmente de otorgar consentimiento, o menor de edad, el investigador debe obtener el consentimiento informado del representante legal y de acuerdo con la ley vigente. Estos grupos no deben ser incluidos en la investigación a menos que ésta sea necesaria para promover la salud de la población representada y esta investigación no pueda realizarse en personas legalmente capaces.

25. Si una persona considerada incompetente por la ley, como es el caso de un menor de edad, es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el investigador debe obtenerlo, además del consentimiento del representante legal.

26. La investigación en individuos de los que no se puede obtener consentimiento, incluso por representante o con anterioridad, se debe realizar sólo si la condición física/mental que impide obtener el consentimiento informado es una característica necesaria de la población investigada. Las razones específicas por las que se utilizan participantes en la investigación que no pueden otorgar su consentimiento informado deben ser estipuladas en el protocolo experimental que se presenta para consideración y aprobación del comité de evaluación. El protocolo debe establecer que el

consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

27. Tanto los autores como los editores tienen obligaciones éticas. Al publicar los resultados de su investigación, el médico está obligado a mantener la exactitud de los datos y resultados. Se deben publicar tanto los resultados negativos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y cualquier posible conflicto de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

Introducción

Principios básicos para toda investigación médica

Principios aplicables cuando la investigación médica se combina con la atención médica

■ C. PRINCIPIOS APLICABLES CUANDO LA INVESTIGACIÓN MÉDICA SE COMBINA CON LA ATENCIÓN MÉDICA

28. El médico puede combinar la investigación médica con la atención médica, sólo en la medida en que tal investigación acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico. Cuando la investigación médica se combina con la atención médica, las normas adicionales se aplican para proteger a los pacientes que participan en la investigación.

29. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de todo procedimiento nuevo deben ser evaluados mediante su comparación con los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles. Ello no excluye que pueda usarse un placebo, o ningún tratamiento, en estudios para los que no se dispone de procedimientos preventivos, diagnósticos o terapéuticos probados.

30. Al final de la investigación, todos los pacientes que participan en el estudio deben tener la certeza de que contarán con los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles, identificados por el estudio.

31. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación nunca debe perturbar la relación médico-paciente.

32. Cuando los métodos preventivos, diagnósticos o terapéuticos disponibles han resultado ineficaces en la atención de un enfermo, el médico, con el consentimiento informado del paciente, puede permitirse usar procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos nuevos o no probados, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Siempre que sea posible, tales medidas deben ser investigadas a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, publicada. Se deben seguir todas las otras normas pertinentes de esta Declaración.

Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, Junio 1964, y enmendada por las:

- 29^a Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, Octubre 1975
- 35^a Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, Octubre 1983
- 41^a Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, Septiembre 1989
- 48^a Asamblea General, Somerset West, Sudáfrica, Octubre 1996
- y la 52^a Asamblea General, Edimburgo, Escocia, Octubre 2000.