



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

QL E IFI COMO TÉCNICAS DE TAMIZAJE PARA
LA DETERMINACIÓN DE ANA Y ANTI-DNA; Y
LOS BIOMARCADORES: VSG, PLAQUETAS, C3 Y
C4 EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS
ENFERMEDADES AUTOINMUNES.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

AIDEÉ IBÁÑEZ ESQUIVEL

ASESOR: M.C. ANA LAURA VAZQUEZ MARTÍNEZ



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.

A G R A D E C I M I E N T O

Los seres humanos vivimos la vida de forma diferente; para unos la vida es fácil, para otros la vida es disfrutarla y vivir cada momento, para otros la vida es muy complicada o vivir planeándola, pero he entendido y aprendido que para triunfar en la vida debes de ser arriesgado, tener valor, coraje para enfrentar tus miedos, constancia, con disfrute y gozo, se quien quieras ser, y como quieras ser pero siempre buscando ser el mejor. Para lograr las metas en la vida, recuerda que nunca lo logras solo, sino que siempre necesitaras de seres queridos, que están a tu lado para apoyarte y que debes agradecer como yo lo hago con:

Mis queridos padres:

Gemima y Aureliano; el amor, que me mostraron a todo lo largo de mi vida en forma de protección, apoyo moral, comprensión, confianza, fueron mi aliciente para seguir adelante, para poder darles el orgullo y una pizca de recompensa a todo ese amor que me han dado, nada de lo que he logrado sería posible sino hubiera tenido unos padres como ustedes, todas y cada una de las veces en que se han privado de cosas para dárme las, su trabajo diario, para poder cubrir mis necesidades y de mis hermanos, por todo esto gracias.

Mis Hermanos:

Yazmin, Griselda y Viridiana gracias, por que mientras ustedes trabajaron yo estudiaba y ustedes me apoyaron, de manera incondicional, por que las necesite y ahí estuvieron, por que en situaciones alegres, tristes y de diferencias, siempre nuestra hermandad persevera.

Pedro mi hermano menor, el único hombre de la familia y que a todos nos ha orgullecido por ser un gran Médico, gracias por tus enseñanzas y apoyo, por darme valor y confianza cuando he olvidado que estos existen, de ti aunque no te lo he dicho he aprendido muchas cosas.

Jonathan:

Por cambiar esas ideas raras y alentarme a vencer mis miedos, y dejaba de confiar en mi siempre has estado para recordarme quien soy yo, mostrándome tu confianza en mi, tu apoyo y tu tiempo, para acompañarme en todos mis tramites, por eso eres quien eres.

A mi asesora,

Por su disponibilidad y confianza con migo, por su tiempo invertido y por a pesar del tiempo transcurrido no me negó su apoyo.

A mis sinodales:

Por su tiempo invertido en revisar mi tesis así como su apoyo, para darme sus diferentes tipos de vista, y sus críticas me ayudaron mucho para mejorar mi trabajo, mil gracias.

A la UNAM

Gracias por permitirme desarrollarme como profesionalista en tus aulas, y permitirme para prepararme para el futuro.

A mis amigos

La palabra amigo es muy delicada ya que se debe de emplear solo para las personas que han demostrado verdadera amistad y yo la empleo para a todas aquellas personas que me han tendido la mano cuando lo he necesitado, que se van cuando todos se quedan y se quedan cuando todos se van.

ABREVIATURAS

Ac: anticuerpo.

aCL: anti Cardiolipina.

ACR: Colegio Americano de Reumatología (del inglés “American College of Rheumatology”)

ACA: anticuerpos anti-centrómero.

ACTH: Hormona Adrenocortrónica (Del inglés Adrenocorticotropic Hormone)

AH: Anticuerpos anti histonas.

AAM: Anticuerpos anti-Mitocondria.

aFL: antifosfolípidos.

AHAI: Anemia Hemolítica Autoinmune.

AINES: Antiinflamatorios No Esteroides.

AIRE: Regulador Autoinmune.

AL: Anticuerpo lúpico.

ALT: Alanina aminotransferasa.

ANA: Anticuerpos Antinucleares.

ANS: Anticuerpos antinucleosoma.

ANCA: Anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilo. (“del inglés anti-neutrophil cytoplasmic antibodies-p”).

ANCA-c: Anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilo (“del inglés anti-neutrophil Cytoplasmic antibodies-c”).

ANCA-p: Anticuerpos anti-citoplasma de Neutrófilo periférico (“del inglés anti-neutrophil cytoplasmic antibodies-periferic”).

APS: Síndrome Autoinmune Poliendócrino

AR: Artritis Reumatoide.

ASMA: Anticuerpos antimúsculo liso.

AST: Aspartato Aminotransferasa.

B₂GPI: glicoproteína β₂.

CK: Creatina Cinasa.

CREST: Raynaud, Dismotilidad Esofágica, Esclerodactilia y Telangiectasias.

CRS: células rojas sanguíneas.

CBP: Cirrosis Biliar Proliferativa.

CAR: Colegio Americano de Reumatología.

CPA: célula presentadora de antígeno.

CTLA-4: Antígeno Asociado a los Linfocitos T Citotóxicos 4.

DMID: Diabetes Mellitus Insulino Dependientes.

DMARDs: Antirreumáticos Modificadores del Curso de la enfermedad.

dsDNA: DNA de doble Cadena.

EBV: virus del Epstein Barr

ELISA: Enzyme-linked-immunosorbent-assay.

EMTC: Enfermedad Mixta del Tejido Conectivo.

ENA: Antígenos Extraíbles de Núcleo.

EPCR: Receptor Endotelial de la Proteína.
Fc: Fracción cristalizante.

FR: Factor Reumatoide.

FT: Factor Tisular.

HLA: Antígeno Leucocitario Humano.

IFI: Inmunofluorescencia Indirecta.

Ig: Inmunoglobulina.

IGIV: inmunoglobulina intravenosa.

IgG: Inmunoglobulina G.

IgM: Inmunoglobulina M.

IPEX: Alteración de la Regulación
Inmunitaria Poli Endocrinopatía,
Enteropatía Ligado al Cromosoma X.

LDH: Lactato Deshidrogenasa.

LLC: Leucemia Linfocítica Crónica.

LES: Lupus Eritematoso Sistémico.

MII: Miopatía Inflamatoria Idiopática.

NK: Natural Killer.

MCTD: Enfermedad Mixta del Tejido
Conectivo (del inglés "Mixed Connective
Tissue Disease").

MPO: Mieloperoxidasa.

MHC: Complejo Principal de
Histocompatibilidad
(del inglés "Major Histocompatibility
Complex).

dsDNA: Ácido Desoxirribonucleico
de doble cadena.

ndDNA: Ácido desoxirribonucleico nativo.

PBS: Tampón de fosfatos (del inglés
"Phosphate búffer")

PZ: Proteína Z

PM: Polimiositis

PBM: Proteína Básica de Mielina.

PTA: Púrpura Autoinmune Trombocitopenica.

QL: Quimioluminiscencia.

RNP: Ribonucleoproteína.

RNA: Ácido Ribonucleico.

RNA^t: Ácido Ribonucleico de transferencia.

RLU: Unidad Relativa de Luz.

SRE: Sistema Retículo Endotelial.

SAF: Síndrome Antifosfolípidos.

Scl-70: Antígeno 70 de escleroderma.

SFM: Sistema Fagocítico Mononuclear.

SS: Síndrome de Sjögren.

SSA: Antígeno SSA.

SSB: Antígeno SSB.

Sm: Antígeno Smith.

SNC: Sistema Nervioso Central.

SNP: Sistema Nervioso Periférico.

snRNA: Ácido Ribonucleico nuclear pequeño.

TCD4⁺: Linfocitos TCD4⁺

TCD8⁺: Linfocito T CD8⁺.

TFPI: Inhibidor de la vía del factor tisular.

TH0: Linfocito Help 0.

TH1: Linfocito Help 1.

TH2: Linfocito Help 2.

TNF: Factor de Necrosis Tumoral.

TTPa: Tiempo de Tromboplastina
Parcial activada.

TSHR: Receptor Hormona Estimulante
de la Tiroides.

PTAI: Púrpura Trombocitopenica Autoinmune.

UI: Unidad Internacional.

UV: ultravioleta.

SRP: partículas de reconocimiento de señal.

VDRL: Prueba de Laboratorio de Enfermedades
Venéreas (del inglés "Venereal Disease Research
Laboratory")

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana.

VSG: Velocidad de Sedimentación Globular.

μl: microlitro.

ZP1: Inhibidor de proteasas dependientes de

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Respuesta inmunitaria frente a un antígeno.....	1
Figura 2. Papel de los linfocitos en la respuesta inmunitaria.....	2
Figura 3. Mecanismos de autoinmunidad.....	4
Figura 4. Células LE.....	9
Figura 5. Daño Tisular y liberación de antígenos intracelulares.....	10
Figura 6. DNA de doble cadena.....	12
Figura 7. Complejo DNA-histonas.....	12
Figura 8. Antígeno U1-snRNP.....	13
Figura 9. Antígeno SS-A y SS-B.....	14
Figura 10. En la AHAI los eritrocitos son opsonizados y fagocitados.....	19
Figura 11. Lesiones dérmicas producidas por LES.....	28
Figura 12. Histopatología del lupus eritematoso, licuefacción de la basal e infiltrados en dermis.....	29
Figura 13. Diferentes tipo de LE.....	30
Figura 14. Actividad inmunitaria por inmunocomplejos.....	33
Figura 15. Mecanismo de la vasculitis.....	37
Figura 16. Intervención de la IL-1 en la vasculitis.....	38
Figura 17. Acción de los aFL en los mecanismos antitrombóticos.....	42
Figura 18. A) Unión de IgG unidas a eritrocitos y B) Unión de IgM a eritrocitos.....	45
Figura 19. Prueba de Coombs directa.....	46
Figura 20. Prueba de Coombs.....	46
Figura 21. Mecanismo Patológico de la Artritis Reumatoide.....	49
Figura 22. Papel de las citocinas en la destrucción del cartílago.....	50
Figura 23. A) y B) Etapas de evolución de la artritis reumatoide en los pies, y manos.....	50
Figura 24. Las articulaciones son afectadas en la AR.....	51
Figura 25. En la esclerosis sistémica se afecta corazón, riñón.....	55
Figura 26. Mecanismo de la Esclerosis.....	56
Figura 27. Xeroftalmia y Xerostomía.....	58
Figura 28. La polimiositis impide a las personas realizar las actividades de rutina diarias.....	61
Figura 29. Patrón ANCA-p.....	65
Figura 30. Patrón ANCA-c.....	66
Figura 31. <i>Crithidia luciliae</i> positiva a DNA.....	66
Figura 32. Patrón Homogéneo.....	67
Figura 33. Patrón Moteado Grueso y Fino.....	67
Figura 34. Patrón citoplasmático.....	68
Figura 35. Patrón Periférico.....	68
Figura 36. Patrón nucleolar.....	69
Figura 37. Patrón Centromérico.....	69
Figura 38. Metodología del proyecto.....	73
Figura 39. Resultados obtenidos de ANA y anti-DNA.....	74
Figura 40. Diagrama del funcionamiento de un equipo de quimioluminiscencia.....	75
Figura 41. Curva de Calibración de anti-DNA en QL.....	78
Figura 42. Curva de Calibración de ANA en QL.....	79
Figura 43. Velocidad de Sedimentación Globular.....	85
Figura 44. Resultados de las 1478 muestras analizadas por quimioluminiscencia.....	88
Figura 45. Resultados de quimioluminiscencia e IFI.....	89

Figura 46. Proporción de los patrones celulares obtenidos, en IFI.....	92
Figura 47. Comportamiento de los biomarcadores en muestras positivas a ANA y anti-DNA.....	95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características del MHC clase I y II.....	5
Tabla 2. Características de ANA.....	11
Tabla 3. Porcentaje de positividad de los ANA contra ENA en enfermedades autoinmunes.....	16
Tabla 4. Clasificación de las enfermedades autoinmunes.....	18
Tabla 5. Antígenos diana en células autoinmunes.....	20
Tabla 6. Enfermedades autoinmunes causadas por inmunocomplejos.....	21
Tabla 7. Enfermedades autoinmunes mediadas por linfocitos T.....	21
Tabla 8. Las enfermedades autoinmunes órgano-específicas.....	22
Tabla 9. Manifestaciones Clínicas del LES.....	33
Tabla 10. Criterios de clasificación del Colegio Americano de Reumatología para LES.....	34
Tabla 11. Descripción de las características clínicas del SAF.....	40
Tabla 12. Características de los aFL.....	40
Tabla 13. Características de los diferentes tipos de AHAI.....	44
Tabla 14. Mecanismos de acción de los factores que intervienen en la etiología de la AR.....	48
Tabla 15. Criterios del Colegio Americano de Reumatología para la AR.....	52
Tabla 16. Características de los diferentes tipos de de Esclerodermia.....	53
Tabla 17. Factores etiológicos de la Esclerodermia.....	54
Tabla 18. Manifestaciones clínicas de la Esclerodermia.....	55
Tabla 19. Manifestaciones clínicas en el Síndrome de Sjögren.....	57
Tabla 20. Manifestaciones Clínicas en la polimiositis y dermatomiositis.....	61
Tabla 21. Autoanticuerpos presentes en la polimiositis.....	62
Tabla 22. Características de las técnicas empleadas en la determinación de ANA y anticuerpos.....	64
Tabla 23. Lectura de los calibradores de QL, para anti-DNA.....	77
Tabla 24. Lectura de los calibradores de QL para ANA.....	78
Tabla 25. Enfermedades que presentan los pacientes analizados.....	88
Tabla 26. Muestras positivas a IFI.....	89
Tabla 27. Comparación de los resultados obtenidos por quimioluminiscencia e IFI.....	90
Tabla 28. Distribución de los patrones de IFI obtenidos.....	91
Tabla 29. Correlacionados de los patrón celular obtenidos en IFI con ELISA.....	92
Tabla.30. Correlación de las enfermedades de los pacientes con los resultados determinados por QL, IFI y ELISA	93
Tabla 31. Evidencia del género que resultó más afectado en este estudio.....	94
Tabla 32. Datos de referencias de los biomarcadores plaquetas, VSG, C3 y C4 en las enfermedades Autoinmunes.....	94
Tabla 33. Comportamiento de los biomarcadores en muestras positivas a anti-DNA y ANA.....	95
Tabla 34. La interpretación de los resultados de QL contra IFI se analiza de la siguiente manera.....	98

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	iv
ÍNDICE DE FÍGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. EL SISTEMA INMUNITARIO.....	1
1.2. AUTOINMUNIDAD Y TOLERANCIA INMUNITARIA.....	2
1.3. MECANISMOS AUTOINMUNES.....	3
1.3.1. Mutaciones Génicas que producen Autoinmunidad.....	5
1.3.1.1. Mutación en genes MHC clase II y su relación con la autoinmunidad.....	5
1.3.1.2. Papel de los genes de susceptibilidad, en la etiología de la autoinmunidad.....	6
1.3.2. FACTORES AMBIENTALES QUE INTERVIENEN EN EL DESENCADENAMIENTO DE LA AUTOINMUNIDAD.....	7
1.3.2.1. Papel de las infecciones.....	7
1.3.2.2. Hormonales.....	7
1.3.2.3. Sustancias químicas.....	8
1.3.2.4. Rayos UV.....	8
1.3.2.5. gen p53.....	8
1.4. ANTÍGENOS EXTRAÍBLES DE NÚCLEO (ENA) Y ANA EN LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES.....	8
1.4.1. ANTECEDENTES DE LOS ANA Y ENA.....	8
1.4.2. DESCRIPCIÓN DE LOS ANA Y ENA.....	9
1.4.3. DESCRIPCIÓN Y PROPIEDADES DE ENA.....	12
1.4.3.1. Anticuerpos anti-DNA de doble cadena.....	12
1.4.3.2. Histonas.....	12
1.4.3.3. Antígeno Sm y RNP.....	13
1.4.3.4 Antígenos SS-A/Ro y SS-B/La.....	14
1.4.3.5. Antígeno anti-PM/Scl.....	15
1.4.3.6. Anticuerpos anti-Jo-1.....	15
1.4.3.7. Antígeno Mi-2.....	15
1.4.3.8. Anticuerpos Anticitoplasma de Neutrófilos (ANCA).....	16
1.5. GENERALIDADES DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES.....	17
1.5.1. Características de la Autoinmunidad Patológica.....	17
1.5.2. Características generales de las enfermedades autoinmunes patológicas.....	17
1.6. CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES.....	18
1.6.1. Clasificación con base en los órganos afectados.....	19
1.6.2. Clasificación de las enfermedades con base en la naturaleza de la respuesta inmunitaria que la produce.....	19
1.6.2.1. Enfermedades Autoinmunes producidas por anticuerpos específicos frente a célula o tejido; ó Hipersensibilidad Tipo II.....	19
1.6.2.2. Enfermedades humanas mediadas por inmunocomplejos.....	21
1.6.2.3. Enfermedades Inmunitarias por linfocitos T.....	21

1.7. ENFERMEDADES AUTOINMUNES ÓRGANO-ESPECÍFICAS.....	22
1.7.1. ENFERMEDADES ORGANO-ESPECÍFICAS MEDIADAS POR LINFOCITOS T.....	23
1.7.1.1. DIABETES TIPO A1.....	23
1.7.1.2. TIROIDITIS DE HASHIMOTO.....	24
1.7.1.3. HEPATITITIS AUTOINMUNE.....	24
1.7.2. ENFERMEDADES AUTOINMUNES ORGÁNO-ESPECÍFICAS MEDIADAS POR ANTICUERPOS.....	26
1.7.2.1. ENFERMEDAD DE GRAVES.....	26
1.7.2.2. ENFERMEDAD DE ADISSON.....	27
1.8. ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS.....	28
1.8.1. ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS PORINMUNOCOMPLEJOS.....	28
1.8.1.1. LUPUS ERITEMATOSO.....	28
1.8.1.1.1. Significado Etimológico.....	28
1.8.1.1.2. Sinónimos.....	28
1.8.1.1.3. Clasificación del Lupus.....	29
1.8.1.1.4. Epidemiología.....	31
1.8.1.1.5. Generalidades del Lupus.....	31
1.8.1.1.6. Etiología.....	32
1.8.1.1.7. Patología.....	32
1.8.1.1.8. Manifestaciones Clínicas.....	33
1.8.1.1.9. Diagnóstico Clínico.....	34
1.8.1.1.10. Tratamiento.....	36
1.8.1.2. SÍNDROMES DE LAS VASCULITIS.....	37
1.8.1.2.1. Patogenia.....	37
1.8.1.2.2. Respuestas patógenas de los linfocitos T y formación de gránulomas.....	38
1.8.1.3. GRANULOMATOSIS DE WEGENER.....	39
1.8.1.3.1. Incidencia y Prevalencia.....	39
1.8.1.3.2. Fisiopatología.....	39
1.8.2. ENFERMEDAD SISTÉMICA AUTOINMUNITARIA MEDIADA POR ANTICUERPOS.....	39
1.8.2.1. SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDOS (SAF).....	39
1.8.2.1.1. Concepto y Generalidades.....	39
1.8.2.1.2. Sinónimos.....	40
1.8.2.1.3. Características Clínicas.....	40
1.8.2.1.4. Anticuerpos Antifosfolípidos (aFL).....	40
1.8.2.1.5. Etiología.....	41
1.8.2.1.6. Patogenia de los aFL.....	41
1.8.2.1.7. Diagnóstico Clínico.....	42
1.8.2.1.8. Laboratorio.....	43
1.8.2.1.9. Tratamiento.....	43
1.8.2.2. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE.....	43
1.8.2.2.1. Sinónimos.....	43

1.8.2.2.2. Manifestaciones Clínicas.....	44
1.8.2.2.3. Clasificación de la AHAI.....	44
1.8.2.2.4. Mecanismos Patológicos de la AHAI.....	45
1.8.2.2.5. Diagnóstico.....	46
1.8.2.2.6. Tratamiento.....	47
1.8.3. ENFERMEDADES AUTOINMUNES MEDIADAS POR LINFOCITOS.....	47
1.8.3.1. ARTRITIS REUMATOIDE (AR).....	47
1.8.3.1.1. Epidemiología.....	47
1.8.3.1.2. Etiología.....	47
1.8.3.1.3. Patogenia.....	48
1.8.3.1.4. Manifestaciones Clínicas.....	50
1.8.3.1.5. Diagnóstico Clínico.....	51
1.8.3.1.6. Tratamiento.....	52
1.8.3.2. ESCLEROSIS SISTÉMICA. (Esclerodermia).....	53
1.8.3.2.1. Clasificación.....	53
1.8.3.2.2. Etiología.....	54
1.8.3.2.3. Estadísticas.....	54
1.8.3.2.4. Manifestaciones Clínicas.....	55
1.8.3.2.5. Patogenia.....	56
1.8.3.2.6. Diagnóstico.....	57
1.8.3.2.7. Tratamiento.....	57
1.8.3.3. SÍNDROME DE SJÖGREN (SS).....	57
1.8.3.3.1. Manifestaciones Clínicas.....	57
1.8.3.3.2. Patogenia.....	59
1.8.3.3.3. Diagnóstico.....	59
1.8.3.3.4. Tratamiento.....	60
1.8.3.4. POLIMIOSITIS Y DERMATOMIOSITIS.....	60
1.8.3.4.1. Generalidades.....	60
1.8.3.4.2. Estadísticas.....	60
1.8.3.4.3. Etiología y Patogenia.....	60
1.8.3.4.4. Manifestaciones Clínicas.....	61
1.8.3.4.5. Diagnóstico.....	61
1.8.3.4.5. Tratamiento.....	62
1.8.3.5. ENFERMEDAD MIXTA DEL TEJIDO CONECTIVO (EMTC).....	62
1.9. TÉCNICAS DE VANGUARDIA UTILIZADAS EN EL LABORATORIO CLÍNICO PARA LA DETERMINACIÓN DE ANA y anti-DNA.....	63
1.9.1. CARACTERÍSTICAS DE UNA TÉCNICA.....	63
1.9.2. PATRONES CÉLULARES DE LOS ANA EN CÉLULAS HEp-02 POR IFI.....	65
1.9.2.1. ANCA.....	65
1.9.2.2. Anticuerpos anti-DNA por <i>Crithidia luciliae</i> (hemoflagelado) IFI.....	66
1.9.2.3. Patrón Homogéneo.....	67
1.9.2.4. Patrón Moteado Grueso y Fino.....	67
1.9.2.5. Patrón citoplasmático.....	68

1.9.2.6. Patrón Periférico.....	68
1.9.2.7. Patrón nucleolar.....	69
1.9.2.8. Patrón Centromérico.....	69
2.-JUSTIFICACIÓN.....	70
3.-HIPÓTESIS.....	71
4.-OJETIVO GENERAL.....	71
5.-OBJETIVOS PARTICULARES.....	71
6.-METODOLOGÍA.....	72
7.-RESULTADOS.....	88
8.-DISCUSIÓN.....	96
9.-CONCLUSIONES.....	103
10.-BIBLIOGRAFÍA.....	105

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. EL SISTEMA INMUNITARIO.

El sistema inmunitario en condiciones de salud (homeostasis) genera una respuesta inmunitaria contra antígenos extraños, y una tolerancia (respuesta inmunitaria no agresiva); hacia los antígenos propios, genera un sistema inmunitario filogenético evolutivo (produce anticuerpos naturales) y mecanismos reguladores y efectores (humorales y celulares) con características de: especificidad, sensibilidad y memoria; a lo largo de todas las etapas de la vida (fetal, niñez, adolescencia, reproductiva y vejez). (Irigoyen, 2006)

La homeostasis, es un estado en el que se mantienen números constantes de células, por medio de una serie de mecanismos. (Abbas 2008)

El sistema inmunitario está estructurado para reconocer, responder y destruir una amplia variedad de organismos invasores como bacterias, virus, hongos y parásitos que de otra forma sería capaz de promover infecciones perjudiciales para el organismo.

La respuesta inmunitaria es celular y humoral ya que involucra elementos celulares y humorales, estos incluyen (Fig.1): antígenos; linfocitos TH0, TH1, TH2; linfocitos B, células natural killer (NK) o asesinas naturales; células presentadoras de antígenos (CPA), citocinas, receptores, moléculas de señalamiento, coestimuladoras en la superficie celular y vías de señalamiento (del exterior de las membranas al núcleo). (Irigoyen 2006)

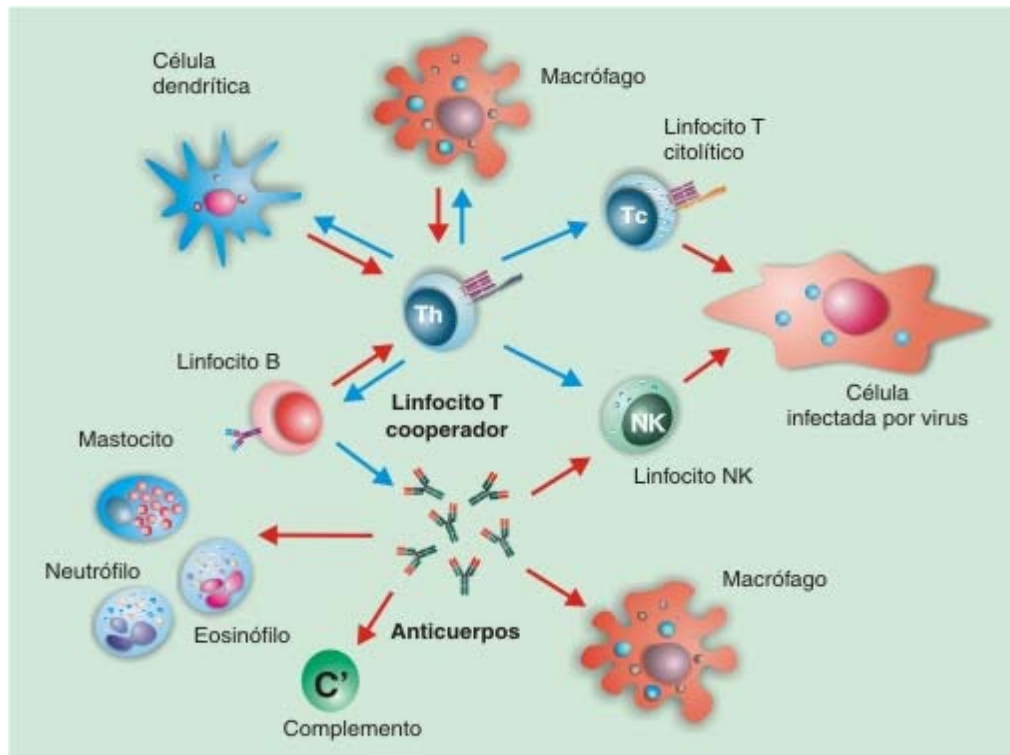


Figura 1. Respuesta inmunitaria frente a un antígeno
(<http://www.med.uva.es/pingo/Inmuno2007/Semi7LinfosTh.pdf>)

Las células linfoides del sistema inmune se componen de células T, que actúan directamente contra los antígenos extraños formando parte de la respuesta celular junto con los macrófagos, y las células B, que sintetizan inmunoglobulinas que se combinan con antígenos extraños siendo responsables de la respuesta humoral (Fig. 2). Las células presentadoras de antígeno son cruciales para la comunicación de célula a célula para la dirección de una respuesta inmunitaria. (McPherson 2006)

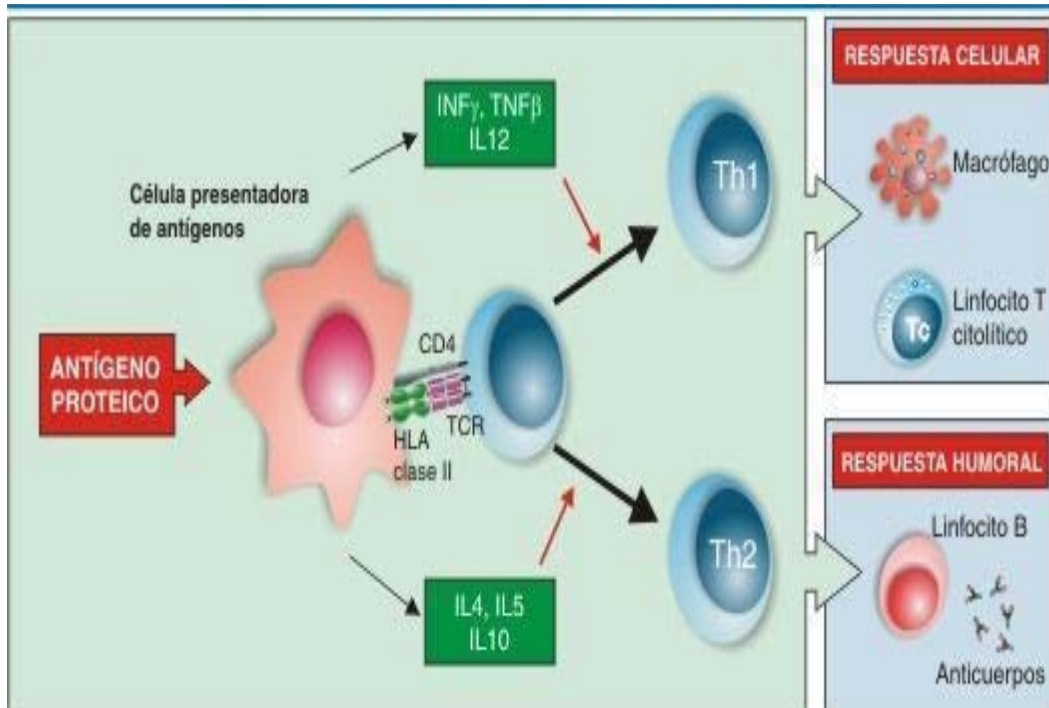


Figura 2. Papel de los linfocitos en la respuesta inmunitaria.

(<http://www.med.uva.es/pingo/Inmuno2007/Semi7LinfosTh.pdf>)

Algunas enfermedades pueden surgir como resultado de varios efectos de una función inmunitaria inadecuada. Estas incluyen reacciones de hipersensibilidad, enfermedades autoinmunes, diversos trastornos de inmunodeficiencia, enfermedad injerto contra hospedador y rechazo. Esta vista general resalta los componentes del sistema inmunitario y sus funciones además de algunos de los trastornos clínicos significativos de la inmunidad. (McPherson 2006)

1.2. AUTOINMUNIDAD Y TOLERANCIA INMUNITARIA.

La autoinmunidad es la respuesta del sistema inmunitario contra antígenos o componentes propios, debido a la pérdida de la tolerancia, que produce pérdida de la homeostasis, daño orgánico, funcional y se manifiesta como diversas **enfermedades autoinmunes** y reumáticas. (Irigoyen 2006)

La tolerancia se define como la falta de respuesta a un antígeno específico, 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 o se pueden inactivar o eliminar, dando lugar a tolerancia, hacia los antígenos propios pero bajo determinadas condiciones de exposición al antígeno también puede provocarse frente a los de origen externo. (Abbas 2008)

La tolerancia a lo propio, se refiere a una falta de respuesta a los antígenos del propio individuo y subyace a nuestra capacidad de vivir en armonía con nuestras células y tejidos.

La tolerancia a los antígenos propios también llamada autotolerancia, es una propiedad fundamental del sistema inmunitario normal. Los individuos normales presentan tolerancia ante sus propios antígenos (autoantígenos) porque los linfocitos que reconocen los antígenos propios mueren o son inactivados o cambian de especificidad.

La tolerancia central se refiere a la muerte (eliminación) de clones de linfocitos T y B autorreactivos durante su maduración en los órganos linfoides (el timo para células T y la médula ósea para células B). Los linfocitos T que aportan receptores para antígenos propios sufren apoptosis dentro del timo dentro del proceso de maduración de célula T. Las células T en desarrollo que expresan receptores de alta afinidad para tales autoantígenos son seleccionadas negativamente o eliminadas y por lo tanto el conjunto de células T periféricas carece de células autorreactivas. ^(Robbins y Cotran 2011)

La tolerancia periférica tiene su máxima importancia en el mantenimiento de la falta de actividad frente a los antígenos propios que se expresan en los tejidos periféricos (ganglios, linfáticos y tejidos linfáticos de la mucosa). ^(Abbas 2008)

Pérdida de la Tolerancia a los antígenos propios.

El aspecto fundamental de la autoinmunidad, y que es probable que constituya la base para poder conocer la patogenia de estas enfermedades es el mecanismo por el que fracasa la autotolerancia y se activan los linfocitos autorreactivos. ^(Robbins y Cotran 2011)

Hoy se sabe que los elementos clave para el desarrollo de la autoinmunidad son:

- Falla génica en la eliminación de linfocitos autorreactivos.
- La activación de los linfocitos autorreactivos.
- La lesión de los tejidos causada por las células efectoras y sus productos.

1.3. MECANISMOS AUTOINMUNES.

La autoinmunidad surge de una combinación de:

- **Genes de susceptibilidad:** que puede influir en el mantenimiento de la tolerancia a lo propio. contribuir a la ruptura de la auto-tolerancia.
- **Desencadenantes ambientales:** como las infecciones y el daño tisular, que promueven la activación de los linfocitos que reaccionan espontáneamente. ^(Robbins y Cotran 2011)

La patogenia de la autoinmunidad es el resultado de múltiples factores, incluyendo genes de susceptibilidad que pueden interferir con la autotolerancia y disparadores ambientales que promueven la entrada de linfocitos en los tejidos, la activación de los linfocitos que reaccionan espontáneamente, y el daño tisular (Fig. 3). ^(Abbas 2008) En general, esas influencias genéticas y ambientales convergen para crear un desequilibrio entre los mecanismos de control que normalmente funcionan para prevenir la auto-reactividad y vías que conducen a la generación y activación de los linfocitos efectores patógenos. ^{(Irigoyen 2006).}

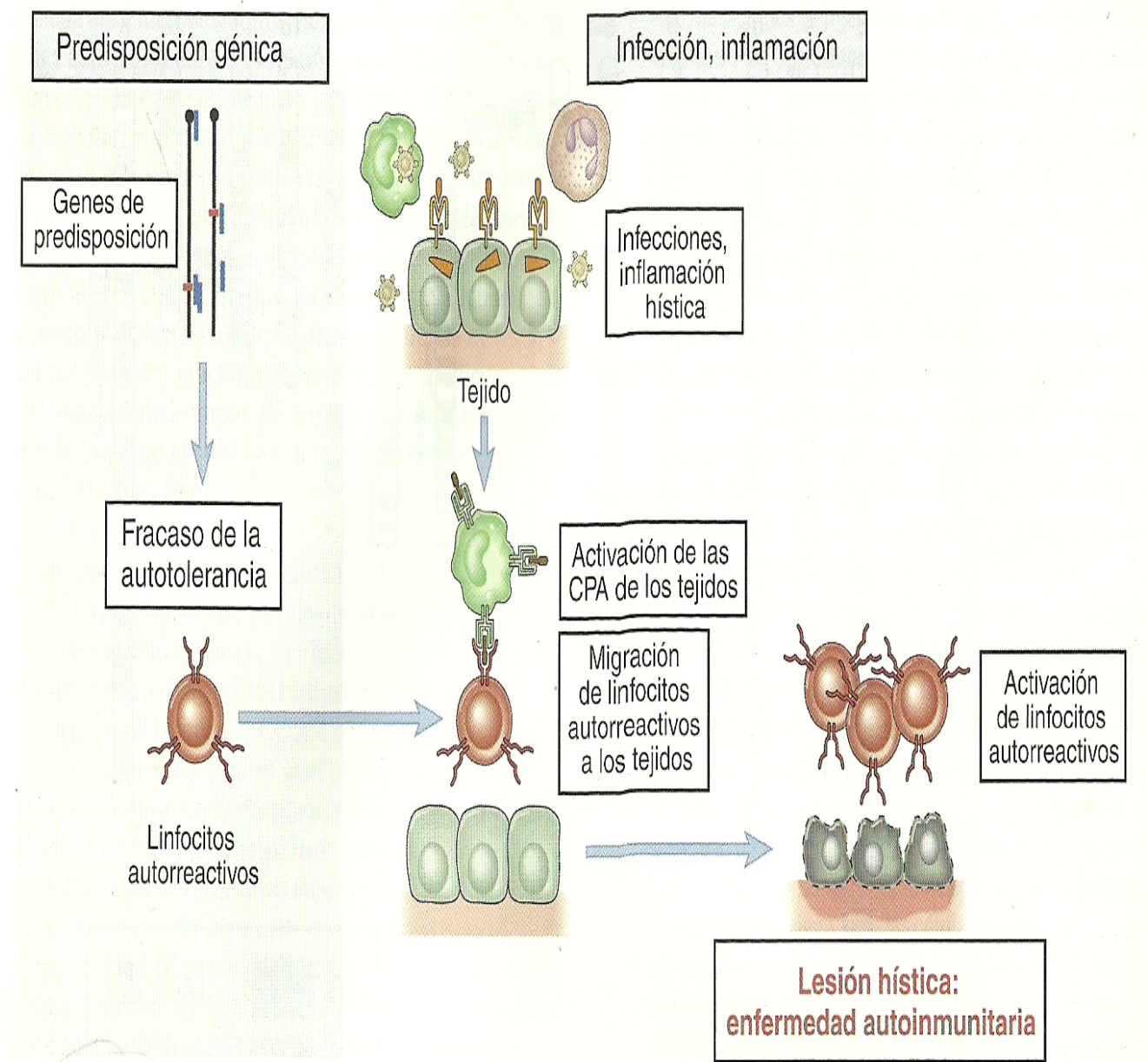


Figura 3. Mecanismos de autoinmunidad. En este modelo propuesto de enfermedad autoinmunitaria, mediada por linfocitos T específicos de órganos, varios locus génicos, pueden conferir propensión a la autoinmunidad, en parte al influir en el mantenimiento de la autotolerancia. Los desencadenantes ambientales, tales como las infecciones y otros estímulos inflamatorios, estimulan la migración de los linfocitos a los tejidos y la activación de los Linfocitos T autorreactivos, con la siguiente lesión hística. (Abbas 2008)

1.3.1 Mutaciones Génicas que producen Autoinmunidad.

1.3.1.1 Mutación en genes MHC clase II y su relación con la autoinmunidad.

La tarea de presentar antígenos asociados a células para que sean reconocidos por los linfocitos T corre a cargo de proteínas especializadas que son codificadas por genes presentes en un locus denominado Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC del inglés Major Histocompatibility Complex) esta nomenclatura es empleada en los ratones y en el humano se denomina antígeno leucocitario humano (HLA). Existen dos tipos principales de productos génicos del MHC, que se denominan moléculas del MHC de la clase I y de la clase II. En la tabla 1 se resumen las características del MHC. ^(Irigoyen 2006)

Entre los genes relacionados con la autoinmunidad, las asociaciones más intensas se dan con genes del MHC, en especial de clase II. Recientemente se han realizado muchos más trabajos sobre la asociación entre los alelos MHC de la clase II DR y DQ, y las enfermedades autoinmunes, sobre todo por que las moléculas del MHC de la clase II intervienen en la selección y activación de los linfocitos TCD4⁺, que a su vez regulan las respuestas inmunitarias tanto humorales como celulares frente a los antígenos proteínicos. La mayoría de las enfermedades autoinmunes son poligénicas y los pacientes afectados heredan múltiples polimorfismos génicos que contribuyen a la predisposición de padecer estas enfermedades autoinmunes. ^(Abbas 2008)

Tabla 1: Características del MHC clase I y II ^(Abbas 2008)

Características	MHC de clase II	MHC de clase I
Composición del complejo péptido-MHC estable.	Cadenas α y β ófilas , péptido	Cadenas α polimorfa, β_2 -microglobulina, péptido.
Tipos de CPA	Células dendríticas, fagocitos Mononucleares, linfocitos B, células endoteliales, epitelio tímico	Todas las células nucleadas
Linfocitos T sensibles	Linfocitos TCD4 ⁺	Linfocitos TCD8 ⁺
Origen de los antígenos proteínicos	Proteínas endosómicas/lisosómicas (principalmente interiorizadas a partir del ambiente extracelular).	Proteínas citosólicas (principalmente sintetizadas en la célula ,pueden entrar en el citosol, desde los fagosomas)
Enzimas responsables de la generación del péptido	Proteasas endosómicas y lisosómicas	Proteasoma citosólico
Punto de unión para El correceptor de los Linfocitos T	Región β_2 se une a CD4	Región α_3 se une a CD8
Lugar de carga del Péptido en el MHC	Compartimiento vesicular especializado	Retículo endoplásmico
Nomenclatura Humano Ratón	HLA-DR,HLA-DQ,HLA-DP I-A,I-E	HLA-A.HLA-B.HLA-C H-2k,H-2D,H-2L

1.3.1.2. Papel de los genes de susceptibilidad, en la etiología de la autoinmunidad.

Se postula que los responsables de las enfermedades autoinmunes son los linfocitos TCD4⁺ restringidos a la clase II, ya que se postula que la presencia de ciertos alelos MHC afecta a la selección negativa de las células T en el timo o el desarrollo de las células T reguladoras, pero la presencia de ciertos alelos MHC no es, por sí sola, la causa de la autoinmunidad, existen otros genes los cuales codifican para AIRE, CTLA4, PD1, Fas L y IL-2 y su receptor CD25, a continuación se explican a detalle.

Cuando los linfocitos inmaduros encuentran a los antígenos en el timo, las células mueren por apoptosis. Este proceso, denominado **selección negativa o supresión**, es responsable de eliminar muchos de los linfocitos que reaccionan espontáneamente con autoantígenos. (Robbins y Cotran 2008, Irigoyen 2006).

1.-Una proteína llamada regulador autoinmune (AIRE) es necesaria para la expresión o la presentación de proteínas específicas o autoantígenos de tejidos en las células epiteliales tímicas y por tanto para la eliminación (selección negativa) de los linfocitos T que reconocen estas proteínas propias. La enfermedad resultante es síndrome poliendócrino autoinmunitario (SPA), que se caracteriza por la destrucción de varios órganos endócrinos.

2.-Edición del receptor es el proceso por el que se puede inducir a que algunos linfocitos B inmaduros que reconocen los antígenos propios en la médula ósea cambien sus especificidades de Ig. La edición del receptor entraña la reactivación de los genes RAG, con lo que se logra una recombinación de nuevas cadenas ligeras, lo que permite a la célula expresar un receptor de Ig diferente que no reaccione con sus propios antígenos.

3.-Anergia es la inactivación funcional prolongada o irreversible de los linfocitos por el reconocimiento de antígenos peptídicos en asociación con moléculas de MHC propias en las CPA. La función del Antígeno Asociado a los linfocitos T citotóxicos 4 (CTLA-4) puede consistir en inducir y mantener la anergia de los linfocitos T frente a autoantígenos, por lo que la pérdida de su función por el bloqueo del gen que codifica a CTLA-4 provoca autoinmunidad, se relaciona con tiroidopatías, destrucción del tejido cardiaco, Diabetes Mellitus Idiopática (DMID), (CTLA-4) es un receptor de las moléculas B7 y se expresa en los linfocitos TCD4⁺ y CD8⁺.

4.-Las mutaciones del gen que codifica el factor de transcripción FoxP3 producen deficiencias de los linfocitos T reguladores y autoinmunidad sistémica. La enfermedad resultante se denomina alteración de la regulación inmunitaria poli endocrinopatía, enteropatía, ligado al cromosoma X (IPEX). FoxP3 es necesario para el desarrollo de los linfocitos T reguladores.

5.- Los defectos de Fas o de ligando de Fas puede dar lugar a la imposibilidad de eliminar a los linfocitos TCD4 maduros mediante la muerte celular inducida por la activación.

6.-Algunos antígenos se encuentran ocultos (secuestro) del sistema inmunitario, ya que los tejidos en los que estos antígenos se encuentran, no se comunican con la sangre y la linfa. Por lo tanto, los antígenos propios en estos tejidos no inducen tolerancia y son básicamente ignorados por el sistema inmunitario, en el caso testículos, los ojos (uveítis) y el cerebro. Si los antígenos de estos tejidos se liberan, como consecuencia de un traumatismo o una infección, el resultado puede ser una respuesta.

7.- Las deficiencias génicas de varias proteínas del complemento entre ellas C1q, C2 y C4 se asocian a enfermedades autoinmunitarias, similares al lupus. Se desconocen los motivos de esta asociación, pero los defectos de la activación del complemento pueden hacer fracasar la eliminación de los inmunocomplejos circulantes. Si los inmunocomplejos que se generan normalmente no se eliminan de la circulación, se pueden depositar en las paredes de los vasos sanguíneos y los tejidos, donde activan a los leucocitos por las vías dependientes del receptor Fc y producen una inflamación local.

El complemento puede tener una importante función en la eliminación de ADN fragmentado que contiene cuerpos apoptóticos. Actualmente se considera que estos cuerpos apoptóticos son inmunógenos importantes en el Lupus. Además las proteínas del complemento regulan las señales mediadas por los antígenos recibidas por los linfocitos B, sin ellas, los autoantígenos pueden no inducir la tolerancia en los linfocitos B y se produce autoinmunidad.

8.- La IL-2 es un factor de crecimiento de células T, también es necesaria para el desarrollo y función de las células T reguladoras y favorece la apoptosis mediada por Fas, cuando está presente durante períodos prolongados. Se ha demostrado que en ratones que carecen de IL-2 o de la cadena α o β del receptor de IL-2 desarrollan autoinmunidad, con enfermedad inflamatoria intestinal y anticuerpos anti-DNA. (Abbas 2008).

9.- La exposición de células a radiación o a agentes quimioterapéuticos induce la apoptosis por un mecanismo que se inicia con el daño al DNA y que implica al gen supresor tumoral p53. P53 se acumula cuando el DNA está dañado y detiene el ciclo celular (en la fase G_1) para dar tiempo a su reparación. Sin embargo, si falla el proceso de reparación del DNA, p53 desencadena la apoptosis. Cuando p53 está mutando o ausente (como ocurre en ciertos cánceres), es incapaz de inducir apoptosis y favorece, la supervivencia celular. Así pues, parece que p53 sirve como un comutador crítico vida o muerte en caso de un estrés genotóxico.

Las células tímicas se suicidan por apoptosis si no son capaces de producir receptores funcionales o si estos se unen firmemente a los receptores de superficie expresados en el timo evitando así una destrucción autoinmune. Estas células pueden ser también inducidas a la muerte programada si son sometidas a radiación al producir la proteína p53, facilitadora de la apoptosis, pero si el gen p53 falla estas células autorreactivas sobreviven. (<http://es.wikipedia.org/wiki/P53>)

1.3.2. FACTORES AMBIENTALES QUE INTERVIENEN EN EL DESENCADENAMIENTO DE LA AUTOINMUNIDAD.

1.3.2.1 Papel de las infecciones.

La respuesta del sistema inmunitario ante las infecciones, puede provocar una hipersensibilidad de tipo II es decir, los anticuerpos producidos por el sistema inmunitario se unen a antígenos en la superficie misma de las células del paciente. A continuación se muestran los mecanismos, por los que las infecciones pueden desencadenar las reacciones de tipo autoinmune.

➤ Algunos microbios expresan antígenos que tienen las mismas secuencias de aminoácidos de antígenos propios. Las respuestas inmunitarias contra los antígenos microbianos induce la producción de citocinas que dan lugar a la activación de los linfocitos autorreactivos, este fenómeno se llama mimetismo molecular. Un ejemplo es la enfermedad reumática del corazón,

ya que los anticuerpos contra las proteínas estreptocócicas reaccionan de forma cruzada con las proteínas del miocardio y causa miocarditis.

- La lesión de los tejidos que es común en las infecciones puede liberar antígenos propios y estructuralmente alterar antígenos propios para que sean capaces de activar las células T que no son tolerantes con estos antígenos nuevos, modificados. ^(Robbins y Cotran)

1.3.2.2. Hormonales.

El sexo femenino es permisivo en cuanto al LES; las hembras de varias especies de mamíferos elaboran respuestas con más anticuerpos que los varones. Las mujeres que han recibido anovulatorios orales con estrógenos u hormonoterapia sustitutiva tienen mayor riesgo de padecer LES. El estradiol se une a los receptores de los linfocitos T y B, amplificando su activación y supervivencia, con lo que favorece una respuesta inmunitaria prolongada.

1.3.2.3. Sustancias químicas.

Ciertas drogas como hidralazina y procainamida, pueden inducir la aparición de LES y de determinados anticuerpos antinucleares (ANA). La α -metil-dopa puede inducir anemia hemolítica por anticuerpos de la clase IgG. El halotano y ácido tienílico, anticuerpos contra el citocromo P450 y hepatopatía. La administración de cloruro de mercurio a animales de experimentación les induce cuadro de LES con neuropatía y ANA. Una posibilidad de su mecanismo es que modifican determinadas proteínas creando neoantígenos y que estos intervengan en la ruptura de la tolerancia para los antígenos propios.

1.3.2.4. Rayos UV.

La luz ultravioleta provoca aumento de la apoptosis en los queratinocitos y otras células al alterar el DNA y las proteínas intracelulares de manera que se tornen antigénicas. ^(Harrison 2007)

1.4. ANTÍGENOS EXTRAÍBLES DE NÚCLEO (ENA) Y LOS ANTICUERPOS ANTINUCLEARES (ANA) EN LAS ENFERMEDADES AUTOINMUNES.

1.4.1. ANTECEDENTES DE LOS ANA Y ENA.

El estudio de los ANA y ENA se inició con la identificación de las células LE ^(Cabiedes 2009). A finales de la década de 1940, período de intensa investigación citológica, Malcolm Hargraves describió el factor sérico (que en el futuro serían los anticuerpos antinucleares) al incubar plasma de un paciente con LES agudo en un material tomado de la médula ósea de una persona sana, a la temperatura corporal logrando observar así las células LE. (Fig.4), que son células polimorfonucleares, con el núcleo alterado, que tiene el aspecto de una masa amorfa.

Seligmann y Hanau Haserick y sus colaboradores, pensaban que en el suero de pacientes con lupus se encontraba una globina que causaban la formación de células LE. Posteriormente se analizó el concepto de **anticuerpos antinucleares** que fueron definidos como “anticuerpos circulantes que reaccionan contra el núcleo de las células intactas, contra la desoxirribonucleoproteína, contra el ácido desoxirribonucleico aislado y contra las histonas. ^(Sally 2010)

En 1957 Halsted Holman y Henry Kunkel demostraron la afinidad del factor sérico al núcleo celular, a las nucleoproteínas o al ADN; esto llevó al desarrollo de técnicas como, hemoaglutinación, fijación de complemento, y entre otras. (Cabiedes 2009)

A finales de la década de 1950 el profesor Beck desarrolla técnicas de inmunofluorescencia para el diagnóstico de lupus. Ya establecida esta técnica, se empezaron a observar diferentes patrones de tinción del núcleo con el suero de los diferentes pacientes. Esta heterogeneidad de los diferentes patrones se explica por los diferentes autoanticuerpos dirigidos contra los diversos antígenos del núcleo. (Sally 2010)

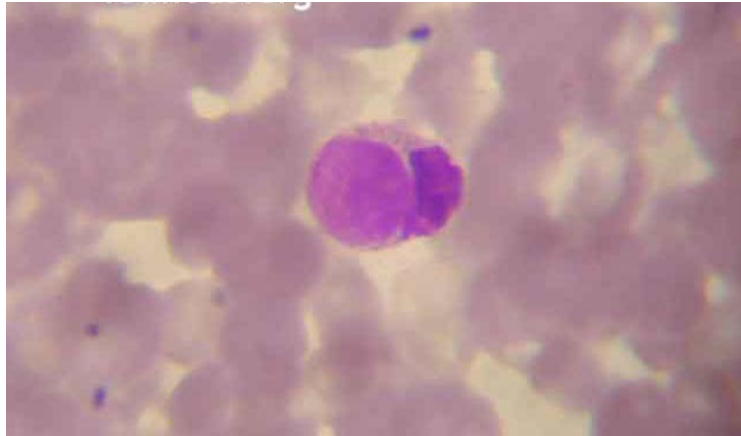


Figura 4. Células LE (www.telmeds.org/.../2009/06/celulas-le1.jpg)

1.4.2. DESCRIPCIÓN DE LOS ANA Y ENA.

Los ANA son los anticuerpos que reaccionan contra los antígenos nucleares, nucléolo, o perinuclear. Estos antígenos representan los componentes celulares, como el ácido nucleico, las histonas, la cromatina y las proteínas ribonucleares. Los antígenos reconocidos por los ANA, (Fig. 5) fueron estudiados a partir de que se lograron purificar mediante técnicas de extracción con soluciones salinas: de ahí surgió el nombre de antígenos extraíbles de núcleo o mejor conocidos como ENA de los cuales existen más de 100 antígenos conocidos. Sin embargo los más estudiados y mejor caracterizados son: antígeno Smith, ribonucleoproteína (RNP) o U1RNP, SSA (Ro), SSB (La) y Jo-1.

Algunas enfermedades se caracterizan por la presencia o ausencia de un anticuerpo específico, en la tabla 2 se muestran esta relación de anticuerpo-antígeno-enfermedad. (Castro C. 2010). El perfil de autoanticuerpos, aunque facilitan la clasificación de enfermedades, no nos dice por qué la piel es un blanco importante en los pacientes con Scl o las articulaciones sinoviales son un objetivo prioritario en los pacientes con AR, o la afectación multiorgánica es particularmente característico de LES, probablemente debido a la deposición de complejos inmunes en las estructuras vasculares. (Cabiedes J 2009).

El nombre del autoantígeno se ha establecido de acuerdo a: (Castro C. 2010, Cabiedes J 2009), (Tabla 2).

- La naturaleza del antígeno (ej.RNP, AH),
- Nombre del paciente que proveyó el suero (ej., Ro, La, Sm, Jo, Mi
- enfermedad que sufría el donante (ej., SSA, SSB, Scl-70, PM-1)

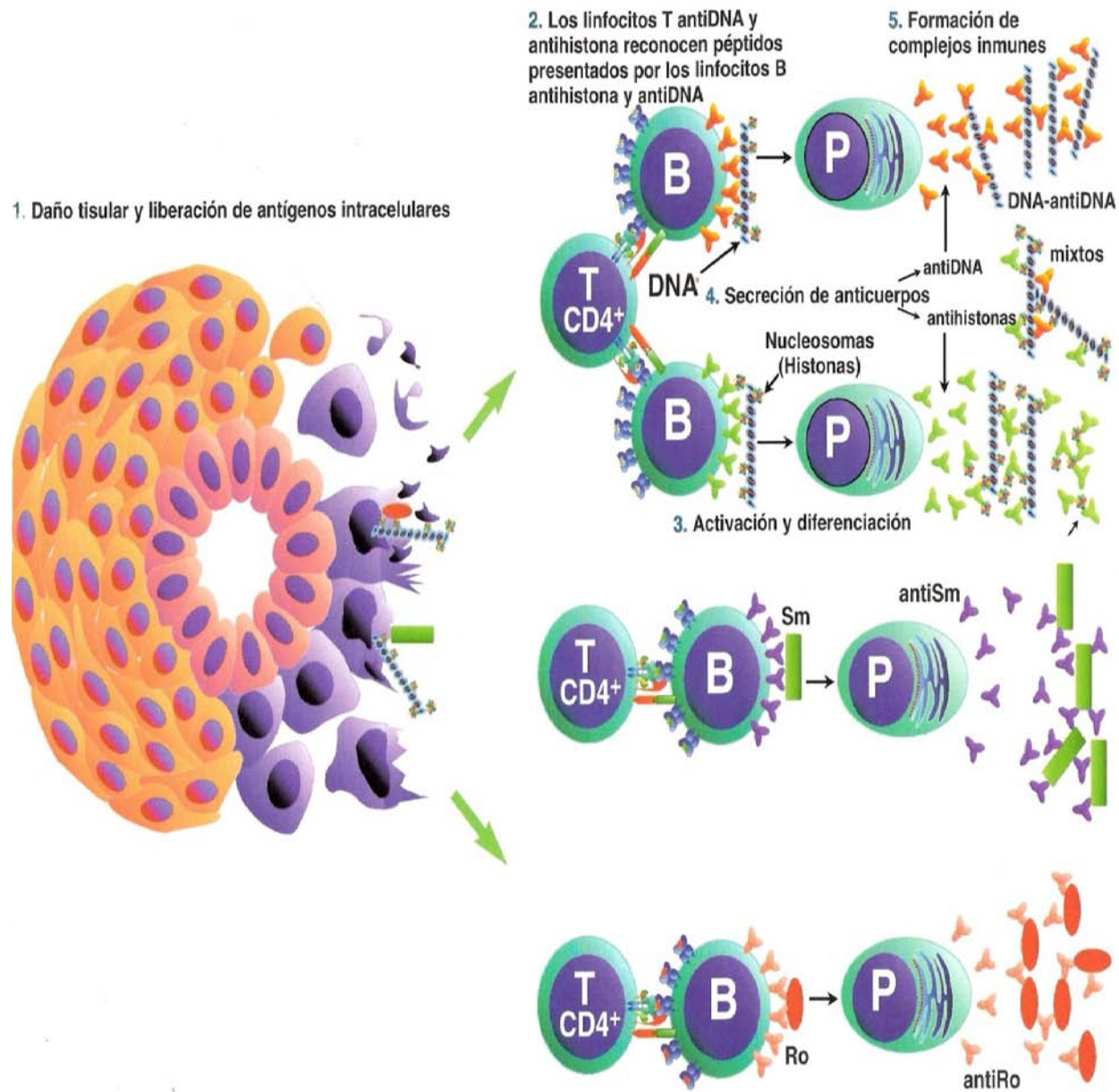


Fig 5. Daño Tisular y liberación de antígenos intracelulares

Tabla 2. Características de ANA (Cristian 2010)

Naturaleza Celular	Autoanticuerpo	Determinante antigénico	Asociaciones Clínicas	Patrón de inmunofluorescencia
Nucleosoma	Anti-DNA de doble cadena	DNA de doble cadena	Alta especificidad para el LES, a menudo se correlaciona con enfermedad activa grave	Homogéneo/periférico
Nucleosoma	Anti-Histonas	Histonas	Lupus inducido por medicamentos.	Homogéneo
Proteína no histona asociada a DNA	Anti-Sm.	Proteína formando un complejo con 6 especies de U1-RNA	Alta especificidad para el LES EMTC, LES, AR, esclerodermia, síndrome de Sjögren	Moteado fino
	Anti-RNP	Formando un complejo con UI-RNA γ		
Proteína no histona asociada a DNA.	Anti-SSA (Ro)	RNP, formando un complejo principalmente con proteínas de 60 y 52 kDa.	El Síndrome de Sjögren, LES, el lupus neonatal	Moteado grueso
	Anti-SSB (La)	Proteína de 42kDa, formando complejo con RNA HY.	El síndrome de Sjögren, lupus eritematoso sistémico, LES neonatal.	Moteado grueso
	Centromérico.	Centrómero / cinetocoro región del cromosoma	Esclerodermia limitada, hipertensión pulmonar, la cirrosis biliar primaria.	Centromérico
	Anti-Scl 70.	DNA topoisomerasa I	La esclerodermia difusa.	Nucleolar granular
	Anti-Jo1 (anticuerpos anti-sintetasa).	Histidil RNAt sintetasa (sintetasas otros RNAt)	Miopatías inflamatorias con enfermedad pulmonar intersticial, fiebre y artritis	Citoplasmático/moteado
	Anti-eritrocitos	Membrana eritrocitaria.	Anemia Hemolítica	No aplica
	Anti-plaquetarios	Antígenos alterados y de Superficie plaquetaria.	Trombocitopenia	No aplica
	Anti-fosfolípidos	Glicoproteína β 2, cofactor de fosfolípidos.	Síndrome Antifosfolípidos	No aplica.

1.4.3. CARACTERÍSTICAS DE ENA.

1.4.3.1 Anticuerpos anti-DNA de doble cadena.

Los anticuerpos contra DNA de doble cadena (dsDNA) (Fig.6) son un importante marcador utilizado en el diagnóstico y seguimiento del LES. Los anticuerpos contra DNA de doble cadena son altamente específicos para el LES. Sin embargo, algunos pacientes con otras enfermedades reumáticas o hepatitis crónica activa, podría haber aumentado ligeramente o moderadamente títulos séricos. (Castro C. 2010)

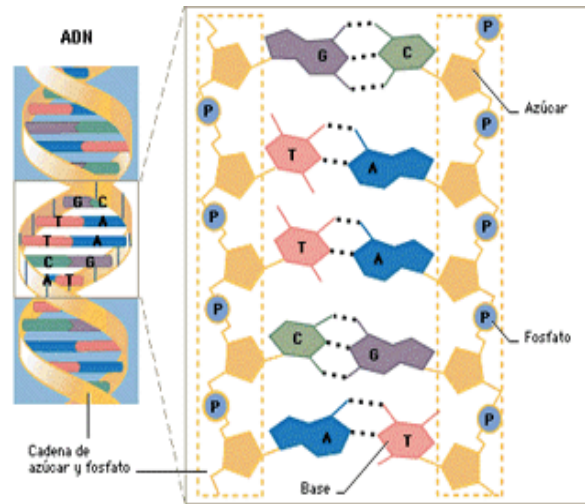


Figura 6. DNA de doble cadena. (www.biotech.bioetica.org/images/adn.jpg)

1.4.3.2. Histonas

Las histonas son los componentes proteínicos de los nucleosomas, o de los complejos DNA-histonas, (Fig.7) que forman la estructura de la cromatina, transcripcionalmente inactiva. Se encuentran en el núcleo, en una estructura altamente organizada consistente en 3 subunidades

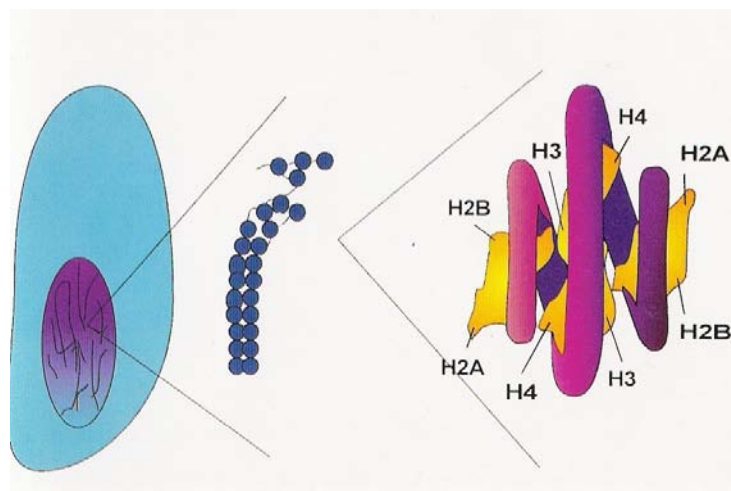


Figura 7. Complejo DNA-histonas (recursos.cnice.mec.es/.../anucleosoma.jpg)

Cada nucleosoma está unido por un conector de longitud variable el cual está asociado con histona H1. Los anticuerpos dirigidos contra todas las clases de histonas de mamíferos están presentes en LES,

pero no están restringidas a esta enfermedad, ya que también han sido detectados en autoinmunidad inducida por drogas, artritis reumatoide, enfermedad del tejido conectivo no diferenciado. Tiene interés histórico y clásico por su responsabilidad en la generación de células LE. ^(Fernández S.2007).

Los medicamentos más relacionados son la procainamida, hidralazina, y anti convulsionantes como la difenilhidantoína. En lupus inducido por procainamida y en lupus espontáneo predominan los anticuerpos dirigidos contra H1 y H2A-H2B y en el lupus inducido por hidralazina suelen reaccionar con H3-H4, pero se generalizan como anticuerpos anti-histonas (AH) ^(Harrison 2007)

1.4.3.3 Antígeno Sm y RNP.

Eng M. Tan junto con Henry Kunkel en Rockefeller University, estudiaron el suero de Stephanie Smith, (Sm) una joven paciente con LES en el que identificaron el antígeno, fué el primer autoantígeno nuclear caracterizado bioquímicamente que no es histona, ni DNA.

Los antígenos Sm y RNP están muy relacionados, pueden diferenciarse mediante digestión enzimática, ya que el Sm es resistente a RNAsa y tripsina, y el nRNP es sensible. Son partículas subcelulares ya que están compuestos por ribonucleoproteínas nucleares de pequeño tamaño, del inglés “small nuclear” rico en uridina, (snRNP) ó (U-RNAs) con proteínas, los determinantes antigénicos son las proteínas y no el componente RNA. Los antígenos Sm y nRNP están estrechamente relacionados aunque el antígeno Sm puede ser aislado y el antígeno nRNP generalmente se contamina del antígeno Sm por lo que por esta razón se reportan como anti-Sm/RNP (Fig. 8).

Los snRNP contienen varios tipos de RNA (U1, U2, U4, U5). Los antígenos de Sm esta compuesto por 4 proteínas: B (28 kDa), B` (28 kDa), D (19 kDa), E (13kDa). ^(Quinta G 2005).

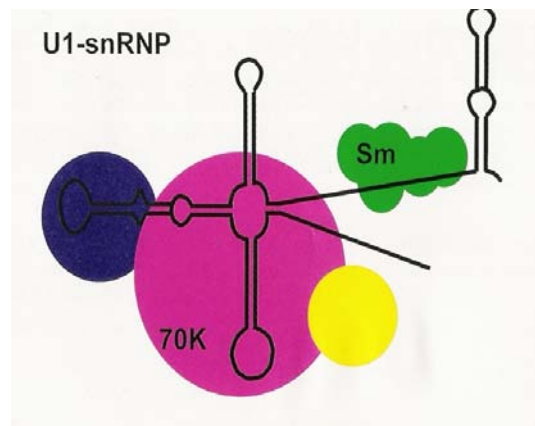


Figura 8. Antígeno U1-snRNP ^(Firestein, 2008,17)

Los anticuerpos dirigidos contra el antígeno anti-Sm, en las células HEp-02, producen un patrón moteado fino. ^(Sally E.2010). Muchos pacientes con anti-Sm también tienen anti-RNP, no así de la forma inversa. El anti-Sm es diagnóstico de LES, pero se encuentra solo en el 25% de personas que presentan LES y en el LES agudo, está presente en 75% de los casos. Su especificidad por LES es muy alta (alrededor del 98%) y su sensibilidad es de solo 20 al 30%, Otros anticuerpos anti-snRNP, dirigidos específicamente contra U2, U5 o U7 también se han descrito en el LES, pero con una frecuencia baja (30%), son reportados raramente en LES neonatal. El antígeno U1-snRNP se observa en pacientes con LES, esclerosis sistémica y en pacientes con enfermedad mixta del tejido conectivo, en la que el 100% de los pacientes por definición presentan únicamente este anticuerpo. ^(Castro C 2010)

1.4.3.4 Antígenos SS-A/Ro y SS-B/La.

En el año de 1969, Clark et.al describieron el antígeno Ro descubierto en el suero de un paciente con LES ya que contenía anticuerpos reactivos contra un extracto citoplasmático de células de bazo humano, posteriormente se emplearon sueros de pacientes con síndrome de Sjögren que mostraron la existencia de anticuerpos que precipitaban tres antígenos diferentes de un extracto de cultivo de linfocitos humanos. Los anticuerpos fueron designados como precipitinas A, B y C, con el prefijo SS, indicando Síndrome de Sjögren, quedando la nomenclatura como SSA y SSB. Demostrándose posteriormente que Ro y SSA, eran el mismo antígeno y que La era el mismo que SSB. (Sally E.2010)

Son complejos de ribonucleoproteínas, en donde las proteínas coexisten como parte de un complejo de proteína-RNA en el que varios polipéptidos se asocian no covalentemente a una familia de RNAs pequeños, ricos en uridina designados como Y1-Y5. Son al menos dos proteínas distintas inmunológicamente, de 52 kDa y 60 kDa que están presentes en SS-A/ Ro (Fig. 9). La ribonucleoproteína de 43 kDa a 52 kDa, toma parte en la regulación transcripcional del RNA polimerasa III así como también de algunos RNA mensajeros (RNAm). En condiciones normales, el complejo Ro-RNP se encuentra en el citoplasma celular, y en el núcleo, sin embargo después de un estrés celular, por ejemplo, la radiación con luz ultravioleta, se han detectado Ro y La, en la superficie de la célula. (Castro C. 2010, Gutiérrez V. 2007)

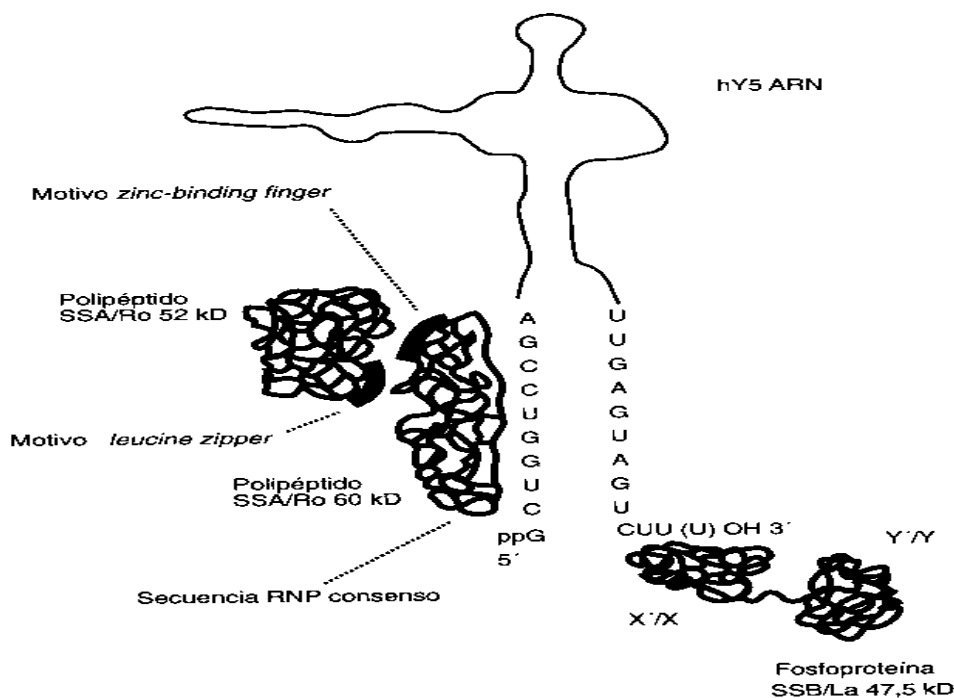


Figura 9. Antígeno SS-A y SS-B.

<http://revista.inmunologia.org/Upload/Articles/3/6/364.pdf>

Los antígenos nucleares Ro y La, se encuentran a menudo juntos en pacientes con síndrome de Sjögren, LES, lupus eritematoso subcutáneo, pero sin enfermedad renal grave. La presencia de anticuerpos anti-Ro y anti-La, se asocia con lupus neonatal, en el que la transferencia transplacentaria

de estos anticuerpos (IgG materna) puede causar erupción fotosensible transitoria, bloqueo cardíaco congénito, o ambas cosas. ^(Castro C. 2010)

El anti SSB/La está frecuentemente asociado con anti SSA/Ro más no viceversa. Aproximadamente el 50% de los sueros de pacientes con LES que contienen anti Ro también contienen anticuerpos anti La. ^(Gutiérrez V. 2007)

1.4.3.5. Antígeno anti-PM/Scl.

Anti-PM/Scl es un anticuerpo dirigido contra componentes del núcleo, estos son vistos a menudo en la miositis y esclerodermia.

El antígeno Scl-70 es una proteína cromosómica identificada como la enzima DNA topoisomerasa I, son específicos para la esclerodermia y aparecen en hasta un 40% en la esclerodermia difusa y en un 10-15% en el síndrome de CREST. Se asocian con la esclerosis cutánea difusa y con un mayor riesgo de fibrosis pulmonar, los anticuerpos anticentrómero reconocen proteínas laminares del cinetocoro cromosómico, especialmente la de 19 kDa. ^(Fernández S. 2007, Castro C.2010)

1.4.3.6. Anticuerpos anti-Jo-1.

Los anticuerpos anti-Jo-1 son los anticuerpos más comunes que se encuentran en el grupo de las miopatías inflamatorias llamadas el síndrome anti-sintetasa. Los anticuerpos anti-Jo-1 se dirigen contra histidil-RNAt-sintetasa (enzima que une a los polipéptidos que forman la cadena proteica de la proteína histidina). ^(Castro C. 2010)

En pacientes con polimiositis se han identificado los anticuerpos anti Jo-1, también se asocian con miositis y enfermedad intersticial pulmonar. El antígeno se encuentra en el núcleo y en el citoplasma. Los anticuerpos anti Jo-1 son específicos de la polimiositis, se detectan en 20-30% de los casos en miositis y enfermedad intersticial pulmonar.

Se detectan en pacientes con: Síndrome de CREST (70-85%), Esclerodermia difusa (10-30%), la respuesta anti-Jo-1 parece contra el antígeno, con cambio de isotipo y maduración de la afinidad. Los anticuerpos contra estos antígenos se encuentran en las enfermedades de Dermatomiositis, Polimiositis, Cuerpos de inclusión de Miositis. ^{(Castro 2010, Sally 2011).}

1.4.3.7. Antígeno Mi-2.

Los anticuerpos anti-Mi-2 reconocen una proteína importante de un complejo nuclear formado por cerca de 7 proteínas implicadas en la transcripción. Los autoanticuerpos contra Mi-2 son específicos en la Miositis y son asociados en la fase aguda de la enfermedad, y son importantes para un mejor pronóstico de la enfermedad y dar el tratamiento correcto y oportuno. Los anticuerpos para estos antígenos siempre se encuentran en la Dermatomiositis, y pueden estar presentes o no en la polimiositis. ^{(Firestein 2010).}

Tabla 3: Porcentaje de positividad de los ANA contra ENA en enfermedades autoinmunes (Sally E. 2011)

Naturaleza del antígeno	Anticuerpos sistémicos	% Enfermedad Positiva					
		LES	LE inducido por drogas	Esclerosis Sistémica Difusa	Esclerosis Limitada —CREST	Síndrome de Sjögren	Miopatía Inflamatoria
(DNA, RNA, proteínas)	ANA (IFI)	>95	>95	70–90	70–90	50–80	40–60
DNA nativo	Anti-DNA de doble cadena	40–60	<5	<5	<5	<5	<5
Histonas	Anti histonas	50–70	>95	<5	<5	<5	<5
Antígeno Smith	Anti-Sm	20–30	<5	<5	<5	<5	<5
RNP (U1RNP)	Nuclear RNP	30–40	<5	15	10	<5	<5
RNP	SS-A(Ro)	30–50	<5	<5	<5	70–95	10
RNP	SS-B(La)	10–15	<5	<5	<5	60–90	<5
DNA topoisomerasa I	Scl-70	<5	<5	28–70	10–18	<5	<5
Proteínas Centromérico	Anticentromero	<5	<5	22–36	90	<5	<5
Histidil-RNAt sintetasa	Jo-1	<5	<5	<5	<5	<5	25

1.4.3.8. Anticuerpos Anticitoplasma de Neutrófilos (ANCA).

Los ANCA reaccionan con diferentes proteínas de los gránulos azurófilos de neutrófilos. Los ANCA aparecen en general en pacientes con vasculitis, glomerulonefritis necrosante, granulomatosis de Wegener y la poliarteritis nodosa microscópica porque comparten algunos mecanismos patogénicos. Los ANCA constituyen un grupo de autoanticuerpos que son inducidos por enzimas lisosomales de los neutrófilos y que, de acuerdo con el patrón obtenido al aplicar la técnica de tinción por inmunofluorescencia indirecta, se clasifican en 2 tipos:

- La especificidad antigénica de ANCA-c ha sido identificada como una serin proteasa neutral de 29 kDa neutral, proteínasa 3 (PR-3), que se encuentra en los gránulos azurófilos de los neutrófilos y los lisosomas peroxidasa-positivos de los monocitos. Proteinasa-3 también se encuentra en la membrana plasmática de neutrófilos y monocitos.
- La vasculitis es generalmente debida a anticuerpos contra la mieloperoxidasa (MPO-ANCA). Curiosamente, muchos de ANCA-p no están dirigidos contra MPO, sino más bien se dirigen a otras enzimas citoplasmáticos de neutrófilos, incluyendo la elastasa, la lactoferrina, la lactoperoxidasa, lisozima, azurocidin o captosina G. El patrón de ANCA debe ser confirmado con pruebas más específicas para los anticuerpos anti- PR-3 y MPO. (Mc Pherson 2006)
- Estos autoanticuerpos intervienen en las alteraciones de las paredes vasculares que se observan en algunas enfermedades caracterizadas por inflamación con infiltración de neutrófilos y leucocitos mononucleares, por lo que su detección se ha incluido en ocasiones como parte de la evaluación diagnóstica de ciertas formas de vasculitis y glomerulonefritis. (Castro C 2010, Mc Pherson 2006)

1.5. GENERALIDADES DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES.

Los autoanticuerpos se pueden encontrar en el suero de individuos aparentemente normales, especialmente en los grupos de mayor edad. Además, los autoanticuerpos inocuos también se forman después de un daño a los tejidos y fisiológicamente pueden participan en la eliminación de productos del daño al tejido. (Robbins y Cotran 2008).

1.5.1. Características de la Autoinmunidad Patológica.

Lo ideal sería que, al menos tres requisitos deben cumplirse antes de que un trastorno se clasifique como tal, debido a la autoinmunidad: (Robbins y Cotran 2011)

- 1.- La presencia de una reacción inmunitaria específica para algunos antígenos propios.
- 2.- Pruebas de que tal reacción no es secundaria a daños en los tejidos.
- 3.- La ausencia de otra causa bien definida de la enfermedad.

1.5.2. Características generales de las enfermedades autoinmunes patológicas.

Las enfermedades autoinmunes tienen algunas características generales importantes:

- Una vez que una enfermedad autoinmune ha sido inducida tiende a ser progresiva a veces con recaídas y remisiones esporádicas y el daño se hace inevitable.
- En el fenómeno de difusión de epítipo, las infecciones e incluso la respuesta autoinmune inicial, puede dañar los tejidos, liberar los antígenos propios y la exposición de epítopes de los antígenos que normalmente se ocultan del sistema inmunitario. (Robbins y Cotran 2011)
- Estos trastornos se pueden dividir en etapas que comienzan con la susceptibilidad genética, factores desencadenantes ambientales, autoinmunidad activa, y por último alteraciones metabólicas con síntomas evidentes de la enfermedad.
- Su especificidad antigénica de cada uno es útil para establecer el diagnóstico.
- Existen algunos principios generales relativos a estas enfermedades que se muestran en ellas por lo que son catalogadas como trastornos inflamatorios autoinmunes y crónicas.

Cada enfermedad de tipo autoinmune, tienden a presentar anticuerpos contra un sistema de antígenos órganos-específico o sistémicos, como por ejemplo: AR, las articulaciones sinoviales; SS, las glándulas exocrinas, Scl, la piel, y PM / DM, el músculo. ^(W. Michels 2010)

1.6. CLASIFICACIÓN DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES.

Las manifestaciones clínicas y patológicas de una enfermedad autoinmune son determinadas por la naturaleza de la respuesta inmunitaria subyacente. (Tabla 4).

Están asociados con la inflamación destructiva debida a células T y a la producción de anticuerpos que causan daño a los tejidos mediante la activación del complemento y la unión a receptores Fc. Por lo que las enfermedades se clasifican con base a la **naturaleza de la respuesta inmune que se produce.** (Robbins y Cotran 2011).

- Clasificación con base en los órganos afectados.
- Clasificación con base en la naturaleza de la respuesta inmunitaria que produce.

Tabla 4. Clasificación de las enfermedades autoinmunes.

Componente inmune por las que son mediadas	Tipo de enfermedad	Nombre específico de enfermedades
Enfermedades Mediadas por anticuerpos	Enfermedad autoinmune órgano específica	Trombocitopenia Autoinmune. Miastenia Gravis. Enfermedad de Graves. Síndrome de Goodspasteur. EMTC Enfermedad de Adisson
	Enfermedad Autoinmune sistémica	SAF
Enfermedades mediadas por inmunocomplejos	Enfermedad Autoinmune Sistémica	LES Vasculitis
Enfermedad mediada por células T.	Enfermedad Autoinmune Órgano específica	Diabetes Mellitus tipo 1 Esclerosis Múltiple Enfermedad de Crohn Hepatitis Autoinmune
	Enfermedad Autoinmune Sistémica	Artritis Reumatoide Esclerosis Sistémica Síndrome de Sjögren

1.6.1 Clasificación con base en los órganos afectados.

a).- *Enfermedades Autoinmunes órgano-específicas o localizadas.* La respuesta inmunitaria está dirigida contra un solo órgano o tejido.

b).- *Enfermedades Autoinmunes sistémicas o generalizadas.* Las enfermedades sistémicas tienden a involucrar a los vasos sanguíneos y tejido conectivo, y por lo tanto, a menudo se clasifican como enfermedades del colágeno vascular. Son aquellas enfermedades en donde la respuesta se caracteriza por anticuerpos contra componentes ubicuos o bien contra una gran variedad de autoantígenos presentes en varios tejidos. (Robbins y Cotran 2011).

1.6.2. Clasificación de las enfermedades con base en la naturaleza de la respuesta inmunitaria que la produce.

- a).- Enfermedades producidas por anticuerpos específicos contra célula o tejido.
- b).- Enfermedades humanas mediadas por inmunocomplejos.
- c).- Enfermedades inmunitarias mediadas por linfocitos T.

1.6.2.1. Enfermedades Autoinmunes producidas por anticuerpos específicos hacia célula o tejido; ó Hipersensibilidad Tipo II.

Los anticuerpos frente a antígenos celulares o de la matriz extracelular provocan enfermedades que afectan de forma específica a las células o tejidos que contienen dichos antígenos, estos anticuerpos pueden causar enfermedades autoinmunes de la siguientes maneras: (Tabla 5).

- Los anticuerpos pueden opsonizar las células o activar el sistema del complemento, induciendo la formación de proteínas que opsonizan las células, las cuales son fagocitadas y destruidas por los fagocitos que expresan receptores para las porciones Fc de los anticuerpos y receptores para las proteínas del complemento. Se trata del mecanismo más importante de destrucción celular en la anemia hemolítica autoinmune y púrpura trombocitopénica autoinmunitario.
- Los anticuerpos depositados en los tejidos atraen a neutrófilos y macrófagos, que se unen a los anticuerpos o las proteínas del complemento mediante sus receptores del Fc y del complemento. Estos leucocitos se activan y sus productos originan lesiones en los tejidos. Es el mecanismo de lesión de la glomerulonefritis mediada por anticuerpos.
- Anticuerpos que se unen a receptores de células normales o a otras proteínas pueden alterar las funciones de tales receptores o proteínas provocando una enfermedad en la que no existe una lesión histológica. (Abbas 2008)

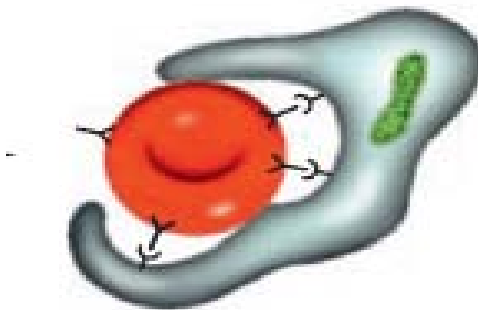


Figura 10. En la AHAI los eritrocitos son opsonizados y fagocitados

Tabla 5. Antígenos diana en enfermedades autoinmunes (Abbas 2008)

Enfermedad	Antígeno Diana	Mecanismos de la enfermedad	Manifestaciones Clínico histológicas
Anemia Hemolítica Autoinmune	Proteínas de la membrana eritrocítica. (antígeno del grupo sanguíneo Rh, antígeno I)	Opsonización y fagocitosis de células rojas	Anemia Hemolítica
Púrpura Trombocitopénica Autoinmune	Proteína de la membrana plaquetaria (GpIIb: IIIa integrin).	Opsonización y fagocitosis de plaquetas.	Hemorragias
Síndrome de Goodpasteur	Proteína no colágena de las membranas basales del glomérulo renal y el alvéolo pulmonar.	Inflamación mediada por el complemento y el receptor del Fc	Nefritis hemorragias pulmonares.
Fiebre reumática aguda	Antígeno de la pared celular del estreptococo; reacción cruzada del anticuerpo con un antígeno del miocardio.	Inflamación y activación del macrófago.	Miocarditis, artritis
Miastenia gravis	Receptor de acetilcolina.	El anticuerpo inhibe la unión de la acetilcolina.	Debilidad y parálisis muscular
Enfermedad de Graves (Hipertiroidismo)	TSH receptor	Estimulación mediada por anticuerpos del receptor TSH.	Hipertiroidismo
Diabetes Resistente a insulina	Receptor de insulina	El anticuerpo inhibe la unión de la insulina.	Hiperglucemia Cetoacidosis
Anemia Perniciosa	Factor intrínseco de células parietales gástricas	Neutralización del factor intrínseco, disminuye absorción de la vitamina B12.	Eritropoyesis, anómala anemia.

1.6.2.2. Enfermedades humanas mediadas por inmunocomplejos o Hipersensibilidad de Tipo III.
(Abbas 2008):

Los complejos antígeno-anticuerpo se producen durante las respuestas inmunitarias normales, pero solo dan lugar a una enfermedad cuando se forman en cantidades excesivas que no pueden eliminarse con eficacia por lo que se depositan en los tejidos (Tabla 6). La magnitud del depósito de inmunocomplejos en los tejidos depende de la naturaleza de los complejos y de las características de los vasos sanguíneos. Los complejos pequeños no suelen ser fagocitados y tienden a depositarse en los vasos en mayor medida que los complejos más grandes, que a menudo son eliminados por los fagocitos. (Kummar 2008, Abbas 2008).

Tabla 6. Enfermedades autoinmunes por inmunocomplejos (Abbas 2008)

Enfermedad	Antígeno implicado	Manifestaciones clinicohistológicas
Lupus eritematoso sistémico	DNA, nucleoproteínas, las plaquetas, glóbulos rojos, y el resultado de complejos proteína-fosfolípido.	Nefritis, artritis, vasculitis
Vasculitis	Complejos inmunitarios en las paredes de los vasos; proteínasa 3 y mieloperoxidasa de Neutrófilos.	Glomerulonefritis y vasculitis granulomatosa en vías respiratorias altas y bajas.

1.6.2.3. Enfermedades Inmunitarias por linfocitos T.

En estas enfermedades participan las células TCD4⁺ (a veces el TCD8⁺), responden a los antígenos histicos con una secreción de citocinas que estimulan la inflamación, y activa a los fagocitos, lo que provoca la lesión del tejido (Tabla 7). (Abbas 2008, Kummar 2008)

Tabla 7. Enfermedades autoinmunes mediadas por linfocitos T o Hipersensibilidad IV (Abbas 2008)

Enfermedad	Especificidad de los Linfocitos T patógenos	Manifestaciones Clinicopatológicas
Diabetes Mellitus tipo 1 (insulinodependiente)	Antígenos de las célulasβ de los islotes pancreáticos (insulina, ácido glutámico-descarboxilasa)	Insulinitis (inflamación crónica de los islotes)), destrucción de células β, diabetes.
Esclerosis Múltiple, encefalomiелitis autoinmunitaria experimental	Proteína básica de mielina, Proteína proteolipídica.	Desmielinización en el SNC con inflamación perivascular, parálisis, lesiones oculares.
Artritis Reumatoide.	Antígeno desconocido de la membrana sinovial.	La artritis crónica con inflamación, destrucción del cartílago articular y el hueso.
Síndrome de Guillain-Barre	Antígeno de la proteína periférica.	Neuritis periférica

1.7. ENFERMEDADES AUTOINMUNES ÓRGANO-ESPECÍFICAS.

La autoinmunidad también afecta a las glándulas múltiples en el sistema endocrino y presentan las siguientes características:

- En algunas enfermedades la destrucción celular esta mediada por células T.
- Los autoanticuerpos son especie específicos o reaccionan con alta afinidad contra antígeno de la propia especie limitándose con frecuencia a un solo órgano. Algunos casos los autoanticuerpos van dirigidos **contra receptores hormonales, y pueden actuar como activadores** como en el hipertiroidismo de Graves.
- En un segundo caso los autoanticuerpos no activan sino que **bloquean los receptores y conducen a una situación de hipofunción sin destruir tejidos.** (Michel W. 2010)

En la tabla 8, se muestran las enfermedades autoinmunes órgano específico, en donde se muestra, cuales son los antígenos en específico contra los que se crean anticuerpos, con las siguientes características.

Tabla 8. Las enfermedades autoinmunes órgano-específicas (McPherson)

Enfermedades de órganos	Autoanticuerpos	Método de detección (s)
Glándula Tiroidea		
Tiroiditis autoinmune	Peroxidasa tiroidea	ELISA e IFI con tejido de tiroides de mono.
	Tiroglobulina	IFI , hemaglutinación pasiva, aglutinación en látex
Enfermedad de Graves	Receptor de TSH	Ensayo Radiorreceptor vinculante ensayo; bioensayo AMPc.
Glándulas Suprarrenales		
La enfermedad de Addison	Adrenocortical	IFI en téjido de mono o corteza suprarrenal humana
Paratiroides	Paratiroidea endotelial proteínas	IFI en la glándula paratiroidea bovina
Páncreas		
La diabetes mellitus tipo 1A	Islote de células	IFI el páncreas humano
	La insulina asociada	Radioinmunoprecipitación
	Anti descarboxilasa del ácido glutámico	ELISA, RIA, inmunotransferencia
Hígado		
La hepatitis autoinmune	Del músculo liso	IFI en téjido de estómago y riñones de -ratón
	Microsomales de hígado y riñón	IFI en téjido de estómago y riñones de ratón; ELISA
	ANA	Células Hep-02
La cirrosis biliar primaria	Mitocondrial (M2)	IFI en téjido de estómago y riñones de ratón; ELISA
Neurológicas		
Miastenia gravis	AChR	Inmunoprecipitación de yodo-125 yELISA
Enfermedades desmielinizantes (es decir, la esclerosis múltiple)	La mielina, la tubulina, PBM, la glicoproteína asociada a la mielina	IFI en médula espinal de humanos; ELISA, inmunoblot

1.7.1. ENFERMEDADES ORGANO-ESPECÍFICAS MEDIADAS POR LINFOCITOS T.

1.7.1.1. DIABETES TIPO 1A.

Definición.

La **Diabetes tipo 1A** es la forma inmunitaria, de los otros tipos de diabetes y que se caracteriza por la destrucción de las células β , lo que lleva a la deficiencia absoluta de insulina tal como la diabetes tipo 1B de origen idiopático.

Estadísticas.

La incidencia de la diabetes tipo 1A ha aumentado drásticamente a una tasa del 3% al 5% anual durante los últimos 50 años. El aumento de la incidencia de diabetes es más marcada en niños menores de 5 años de edad.

Etiología.

La introducción temprana de cereales a la edad de 4 a 6 meses, han sido asociados con un mayor riesgo de autoinmunidad contra los islotes a comparación de los niños que tuvieron la exposición inicial de cereales, después de 7 meses de edad, ya que presentaron menor riesgo de tener anticuerpos contra los islotes.

Patogenia.

En esta enfermedad las células TCD4+, TCD8+ y macrófagos CD20+, se infiltran en los islotes, provocando la muerte de las células β , por lo tanto la disminución de la producción de insulina y terminando en hiperglucemia originando la diabetes insulino-dependiente. Los autoanticuerpos contra antígenos de células de los islotes es la primera indicación para el desarrollo de la diabetes y los pacientes conservan la suficiente masa de células β inicialmente para euglucemia. Hay 4 autoanticuerpos utilizados para predecir el desarrollo de la diabetes tipo 1A:

- anticuerpos contra la descarboxilasa del ácido glutámico (GAD65).
- proteína tirosina fosfatasa (también llamado ICA512 islote-antígeno asociado [IA-2]).
- Insulina.
- transportador de zinc T8 (ZnT8).

Diagnóstico.

La determinación, de los autoanticuerpos contra las células β pancreáticas y la vigilancia rutinaria de los niveles de glucosa en sangre, la presencia de 2 o más autoanticuerpos mencionados anteriormente tiene un valor predictivo positivo superior al 90% entre los familiares de un paciente con diabetes tipo I, y un autoanticuerpo único conlleva un riesgo de aproximadamente el 20.

Tratamiento.

La base del tratamiento de la diabetes tipo 1A es la terapia de insulina y otras terapias incluyen las vacunas, con la cadena B de la insulina, la insulina y otros péptidos. (Michels A.W. 2010)

1.7.1.2. TIROIDITIS DE HASHIMOTO.

Definición.

La tiroiditis de Hashimoto (o tiroiditis linfocítica crónica) es la causa más frecuente de hipotiroidismo. Se caracteriza por un gradual fallo tiroideo debido a la destrucción autoinmune de la glándula tiroidea, produciéndose una pérdida gradual de la función tiroidea, el bocio, y la infiltración de células T en la histología.

Estadísticas.

Este trastorno es más prevalente entre los 45 y 65 años y es más común en mujeres que en hombres, con un predominio femenino de entre 10:1 y 20:1. Aunque es primariamente una enfermedad de ancianas puede ocurrir en niños.

Patogenia.

En esta enfermedad el sistema inmunitario reacciona contra una variedad de antígenos tiroideos. Existe depleción progresiva de células epiteliales tiroideas (tireocitos), que son gradualmente reemplazadas por una infiltración de células mononucleares y fibrosis. Múltiples mecanismos inmunológicos pueden contribuir a la muerte de tireocitos. La sensibilización de células T-cooperadoras CD4+ autorreactivas a los antígenos tiroideos parece ser el factor desencadenante. Las CD8+ pueden causar la destrucción de los tireocitos por exocitosis de gránulos que contienen perforinas/granzyme o intervención de receptores de muerte específicamente CD29 (también conocidos como Fas) en la célula diana. Las células TCD4+ producen citocinas inflamatorias tales como IFN- γ en el entorno al tireocitos., lo que provoca el reclutamiento y activación de macrófagos y la lesión de los folículos.

Diagnóstico.

El diagnóstico de TH se hace basado en clínica (fatiga, debilidad, intolerancia al frío, aumento de peso, estreñimiento, piel seca, depresión y falta de crecimiento o retraso de la pubertad en los niños) y las manifestaciones bioquímicas de hipotiroidismo, pruebas de función tiroidea muestran un mayor nivel de TSH y una baja en los niveles de triyodotironina y tiroxina. (Michels A.W. 2010)

1.7.1.3. HEPATITITIS AUTOINMUNE.

Generalidades.

Enfermedad inflamatoria del hígado, producida por una respuesta anómala por parte del sistema inmunitario en contra de los antígenos presentes en la superficie de los hepatocitos. Sus sinónimos son: hepatitis lupoide, y hepatitis crónica autoinmune activa.

Etiología.

Posibles desencadenantes incluyen los virus como el virus de la hepatitis, virus del sarampión, citomegalovirus y virus de Epstein -Barr, (Buskila D. 2008). Algunos medicamentos se han implicado como DR4 se asocia con una mayor edad al momento de presentarse y, en general un resultado más benigno, con un curso de una enfermedad más leve y una mejor respuesta a los esteroides. (Schneider B.L 2007)

Manifestaciones Clínicas.

Malestar, en la región abdominal superior, prurito leve, anorexia, náuseas y artralgia en la que se afecta a las articulaciones pequeñas. Aproximadamente el 80 % de los pacientes presentan hepatomegalia, ictericia (aproximadamente el 70% de los pacientes) y esplenomegalia (aproximadamente el 32%) estará presente en aproximadamente el 70 % de los pacientes también se presentan rasgos característicos de la cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria y autoinmune. (Buskila D. 2008).

Epidemiología.

- La HAI la presentan mujeres entre edades de 10-20 años o 45-70 años.
- La Hepatitis Autoinmune tipo 2, afecta a niños entre edades de 2-14 años.
- En los EUA la HAI afecta entre 100 y 200 pacientes al año.
- Su presencia es alta en poblaciones del Europa y América del Norte y Australia. (Buskila D. 2008).

Patología.

Aunque los mecanismos patológicos subyacentes de la HAI no se entienden completamente, HAI se asocia generalmente con autoanticuerpos circulantes (hasta en el 90 % de los pacientes), junto con una concentración sérica alta de la globulina.

Diagnóstico.

Hay dos tipos de HAI de acuerdo con la seropositividad: anticuerpos anti-músculo liso (SMA) que es la HAI tipo 1 y la HAI en la que se crean anticuerpos contra microsomas de hígado-riñón 1 (anti-LKM1), la respuesta al tratamiento, a largo plazo son similares en los dos grupos. Para HAI son SMA. Estos son un grupo heterogéneo de anticuerpos dirigidos contra diferentes proteínas del citoesqueleto, como la actina. La presencia de un SMA es común en pacientes que tienen HAI, o bien a solas o en conjunción con una ANA en hasta un 87% de los pacientes, pero no es específico para el diagnóstico de hepatitis autoinmune. Se presentan en otras enfermedades crónicas del hígado y diversas enfermedades infecciosas, inmunológicas y trastornos reumatológicos. Se determinó por IFI. El patrón de inmunofluorescencia en este caso no es muy útil para determinar el pronóstico ni aumenta la precisión diagnóstica. (Luigi Muratori, 2009)

Tratamiento.

Los corticoides son la base del tratamiento y, solo o en combinación con azatioprina, se han demostrado mejorar significativamente las tasas de supervivencia y calidad de vida y reducir la necesidad de trasplante hepático. El 65% de los pacientes en tratamiento con corticosteroides experimentarán una remisión a menos de 3 años. El trasplante hepático está indicado en pacientes terminales. (Mieli-Vergani G 2009)

1.7.2. ENFERMEDADES AUTOINMUNES ORGÁNO-ESPECÍFICAS MEDIADAS POR ANTICUERPOS.

1.7.2.1. ENFERMEDAD DE GRAVES.

Definición.

La Enfermedad de Graves es un trastorno autoinmune caracterizado por la presencia en el suero de diversos anticuerpos incluyendo anticuerpos frente al receptor TSH, peroxisomas tiroideos y tiroglobulina.

Estadísticas.

- La enfermedad de Graves tiene un pico de incidencia entre los 20 y 40 años de edad.
- La relación mujer: hombre es de 7:1.
- Esta presente entre 1.5 y 2% de las mujeres en EU.

Etiología.

- La enfermedad de Graves ocurre en individuos de test blanca con HLA DR3 y DQA1 que confieren el mayor riesgo, mientras que HLA.DRB1*0701 es de protección.
- El sexo femenino es el principal factor de riesgo, con el tabaquismo, tratamiento con litio, yodo y el consumo bajo de éste también se asocia con la enfermedad.
- TH se presenta en poblaciones genéticamente susceptibles, pero carece de una fuerte asociación con el HLA. Las mutaciones en el gen de la tiroglobulina y los linfocitos T citotóxicos antígeno asociado (LTCA) están asociados con la enfermedad. (Michels A.W. 2010, Mc Pherson 2010)

Manifestaciones Clínicas.

Las manifestaciones clínicas son palpitations violentas y continuas, temblores, intolerancia al calor, sudoración, ansiedad, labilidad emocional y pérdida de peso a pesar de un aumento normal del apetito. Las manifestaciones extratiroideas como oftalmopatía de Graves (GO) y dermatopatía (mixedema pretibial) (Michels A.W. 2010, Mc Pherson 2010)

Patogenia.

En la enfermedad de Graves el receptor de la Hormona Estimulante de la Tiroides (TSHR) es estimulado por autoanticuerpos, como la Inmunoglobulina Estimulante de la Tiroides (IET), activa las células tiroideas que resultan en hipertiroidismo asociado con diferentes factores: que está asociada con un bocio, palpitations y exoftalmos.

Los autoanticuerpos frente al receptor TSH son fundamentales en la patogenia de la enfermedad, aunque los efectos específicos de los anticuerpos varían dependiendo del epítipo del receptor TSH sobre el que actúen directamente. La Inmunoglobulina estimulante del tiroides simula la acción del TSH, estimulando la adenil ciclasa, con el consiguiente incremento en la liberación de hormonas tiroideas. Estos anticuerpos son específicos para la enfermedad de Graves, en contraste con la tiroglobulina y los anticuerpos antiperoxidasa.

Diagnóstico.

El diagnóstico se realiza con manifestaciones clínicas y bioquímicas de hipertiroidismo mostrándose niveles bajos de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) y el aumento de los niveles de tiroxina y triyodotironina. El diagnóstico se confirma con una captación de yodo radiactivo y exploración (sólo probado en pacientes no embarazadas, y no en periodo de lactancia) que muestra aumento de la captación homogénea (Michels A.W. 2010, Mc Pherson 2010)

Tratamiento.

Las opciones de tratamiento incluyen fármacos antitiroideos, yodo radioactivo, y cirugía. Los fármacos antitiroideos bloquean la síntesis de hormonas tiroideas, pero la mayoría de los pacientes experimentan recaídas con la suspensión del tratamiento. El tratamiento consiste en reemplazo de la tiroxina de por vida con el objetivo de normalizar el nivel de TSH. (Michels A.W. 2010)

1.7.2.2. ENFERMEDAD DE ADISSON.

Definición.

La enfermedad de Addison es un trastorno crónico de la corteza adrenal, resultando en una menor producción de glucocorticoides, mineralocorticoides y andrógenos. No hay aumento de la secreción de la hormona adrenocorticotropica (ACTH) de la glándula pituitaria. (Michels A.W. 2010)

Patogenia.

La susceptibilidad se confiere a través de los genes que codifican la clase II de MHC, y como es el caso de la diabetes tipo 1A, hay una fuerte asociación con el haplotipo DR3. Estos individuos presentan anticuerpos contra la enzima 21-hidroxilasa y eventualmente pierden la capacidad de producir cortisol. Un aumento de la renina plasmática produce alteraciones metabólicas como: nivel mayor de corticotropina, bajo nivel de cortisol basal e hipotensión. (Michels A.W. 2010, Mc Pherson 2010)

Manifestaciones Clínicas.

Las manifestaciones clínicas son sutiles ortostasis, debilidad, fatiga, anorexia, náuseas, mialgias, y el deseo de sal. Si se realiza un seguimiento anual con una prueba de estimulación con ACTH para permitir un diagnóstico temprano y prevenir una crisis suprarrenal.

Diagnóstico.

Se determinan altos niveles de ACTH y una deficiencia de cortisol o cuando los niveles de cortisol sérico no aumentan después de una prueba de estimulación de mayores niveles de ACTH basal. El examen histológico de las glándulas suprarrenales revela fibrosis con infiltrado de células mononucleares, células plasmáticas y centros germinales.

Tratamiento.

El tratamiento es con glucocorticoides y mineralocorticoides permanente, con el asesoramiento sobre la necesidad de esteroides en dosis de estrés para las enfermedades y antes de procedimientos quirúrgicos. (McPherson 2010)

1.8. ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS.

Las características por las que se definen las enfermedades autoinmunes se mencionan a continuación:

- Se presenta diversidad amplia y variada de autoanticuerpos en el suero de los pacientes con enfermedades autoinmunes sistémicas.
- La repercusión del fenómeno autoinmune, alcanza diversas estructuras del organismo.
- Es más exacto describirlas como síndromes. Se tratan de cuadros clínicos que presentan fenotipos similares, como resultado de muchos orígenes distintos.
- El sexo femenino resulta más afectado que el sexo masculino y a menudo lo hacen relativamente pronto en la vida adulta. Los factores responsables al parecer son la predisposición hormonal y reproductiva.
- A excepción de Scl, estas enfermedades generalmente responden a los medicamentos anti-inflamatorios e inmunosupresores, por lo que estas enfermedades implican un proceso de inflamación, de origen inmunitario. (Amy 2010).

1.8.1. ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS POR INMUNOCOMPLEJOS.

1.8.1.1. LUPUS ERITEMATOSO.

1.8.1.1.1. Significado Etimológico.

El Lupus Eritematoso deriva del latín lupus y etimológicamente significa lobo, por alusión a la lesión cutánea que el lupus produce en la cara y eritematoso quiere decir "Rojo". (Fig. 11) (Amy J. 2010)

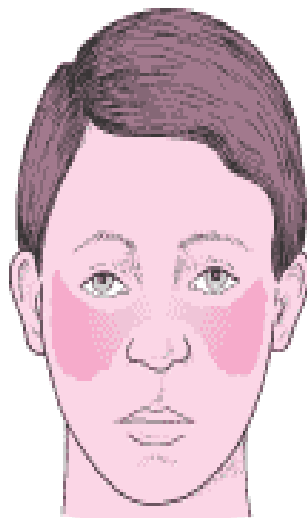


Figura 11. Lesiones dérmicas producidas por LES. (Alas de mariposa)

1.8.1.1.2. Sinónimos.

- lupus diseminado eritematoso.
- Lupus.
- LES.

1.8.1.1.3. Clasificación del Lupus.

Lupus Eritematoso Discoide o Cutáneo (LED).

- Siempre se limita a afectar la piel.
- Se le identifica por manchas rojas, como brotes, que aparecen sobre ambas mejillas y el puente de la nariz, dando la impresión de la mariposa con las alas abiertas, estas manchas pueden aparecer en otras partes del cuerpo expuestas al sol, tales como cara, cuello y cuero cabelludo.
- Habitualmente no afecta los órganos internos del cuerpo.
- Aproximadamente el 5% de los pacientes con LED pueden cambiar a la forma sistémica, los pacientes que progresan a ésta forma de la enfermedad probablemente tenían lupus sistémico desde el principio.
- Las lesiones discoides son circulares, con bordes eritematosos en alas de mariposa, hiperpigmentados, escamosos y ligeramente elevados con centros atróficos y despigmentados donde existe destrucción permanente de los apéndices dérmicos. Las lesiones llegan a causar desfiguración en particular en la cara y el cuero cabelludo, se localiza en tórax, espalda y brazos. (Habif 2009)
- La biopsia muestra en la epidermis atrofia, hiperqueratosis marcada y tapones córneos a nivel de la desembocadura de los folículos, hay licuefacción de la membrana basal, en la dermis se detecta edema y hialinización del tejido conjuntivo con necrosis fibrinoide y un infiltrado linfocitario (Fig. 12) sobre todo alrededor de los vasos que se pueden ver dilatados u obliterados. (Amado Saúl).

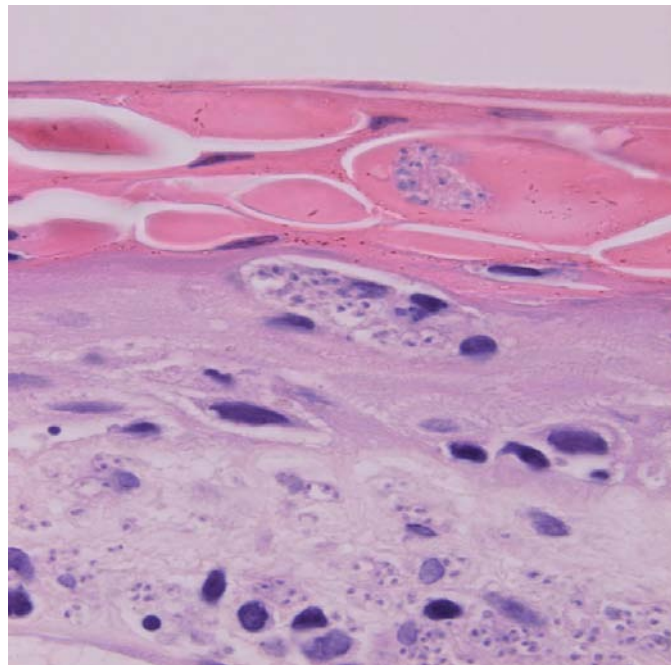


Figura.12 .Histopatología del lupus eritematoso, licuefacción de la basal e infiltrados en dermis.

www.conganat.org/.../scruz/images/cd/cd52.jpg

Lupus Sistémico.

- Se caracteriza por la producción de ANA que a través de mecanismos inmunes en varios tejidos, causan varias combinaciones de signos clínicos y síntomas.(Fig. 13)
- Es generalmente más severo que el lupus discoide y puede afectar casi cualquier órgano del cuerpo, en algunas personas puede afectar solamente piel y articulaciones.
- No hay dos pacientes con LES que tengan síntomas idénticos. ^(Habif 2009)

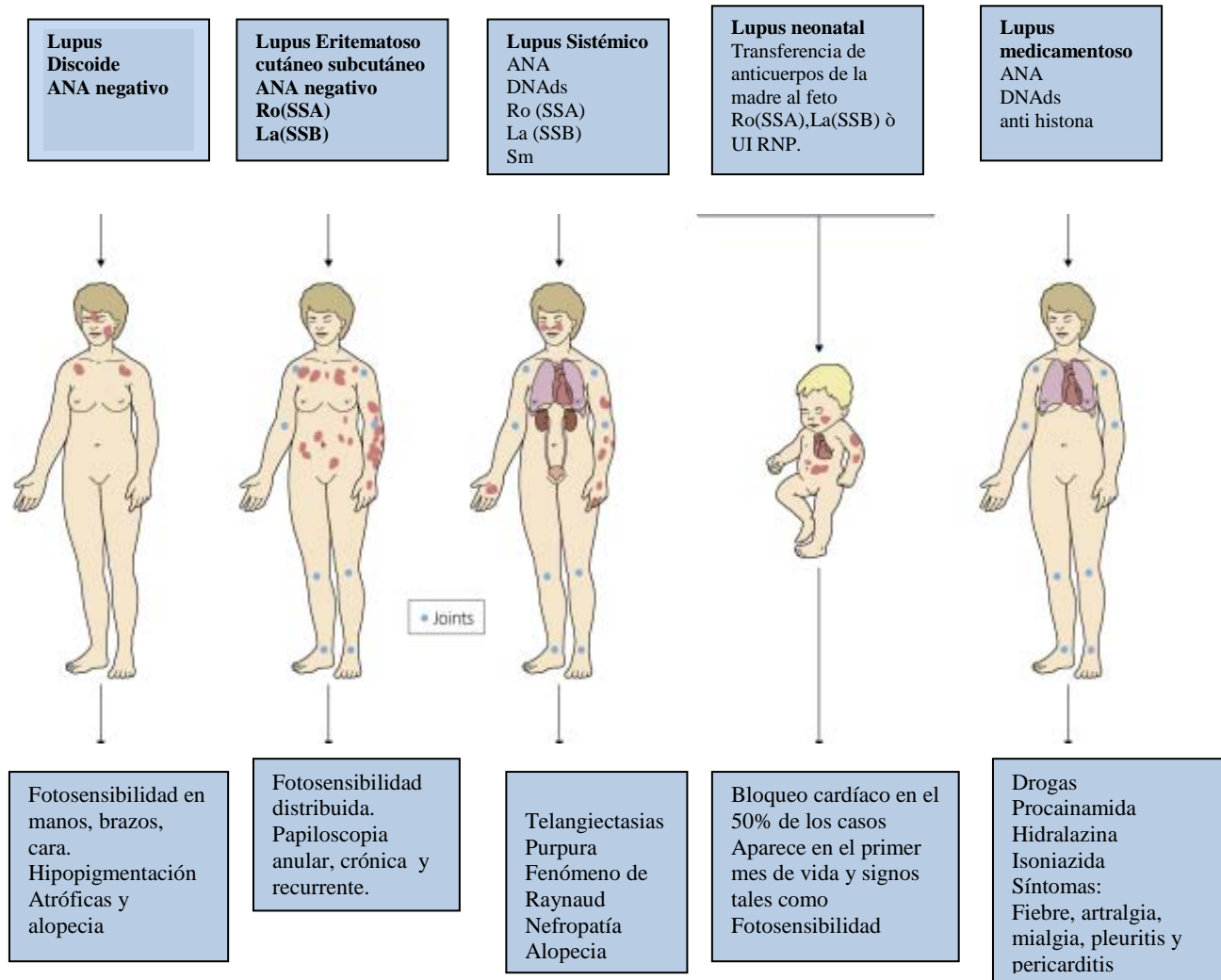


Figura 13: Diferentes tipo de LE ^(Habif 2009)

Lupus Medicamentoso.

- Se presenta en un tiempo después de tomar fármacos recetados para diferentes enfermedades. (que no son lupus).
- Los medicamentos relacionados con este tipo de lupus son: la hidralazina, (trata hipertensión arterial), procainamida (alteraciones de ritmo cardíaco), isoniazida, clorpromazina, metildopa y agentes bloqueadores.
- Es mas común en hombres, ya que éste tipo de fármacos son prescritos mas frecuentemente en pacientes del sexo masculino. Los síntomas disminuyen cuando se suspenden éstos medicamentos hasta desaparecer. ^(Habiff 2009)

1.8.1.1.4. **Epidemiología.**

La incidencia y la prevalencia del LES varía en todo el mundo por raza y etnia, así como la geografía. ^(Hsia C.E 2007)

- Varía de 2-7/100, 000 habitantes por año en los EE.UU.
- En el norte de Europa se ha informado 4 / 100, 000 habitantes.
- En todo el mundo oscila entre 2.9-400/100, 000 habitantes.
- Edad fértil (20-45 años), con una frecuencia alta (80 % de los casos).
- En comparación mujer a hombre es solamente 2:1 para la enfermedad que se desarrolla en la infancia o después de los 65 años.
- LES es una enfermedad de mujeres. Se presenta en una frecuencia de 1 por cada 700 mujeres en edad fértil.
- Una proporción mujer a hombre de 9:1.
- LES surge en la tercera y cuarta década,
- Es más común en afroamericanos que en caucásicos (1 de cada 245).
- No hay transmisión genética probada: constitución genética podría predisponer a un LES.
- Es más común en países donde existe una población indígena africana.
- Puede manifestarse a cualquier edad, incluso en la primera infancia. ^(Hsia C.E 2007)

1.8.1.1.5. **Generalidades del Lupus.**

El LES es la enfermedad prototipo de las enfermedades autoinmunes, inflamatorias sistémica progresiva, clínicamente compleja que sigue un curso de alternancia de exacerbaciones y remisiones, que puede interrelacionarse ó traslaparse con otras enfermedades reumatológicas como: síndrome antifosfolípidos, artritis reumatoide, esclerodermia, polimiositis, dermatomiositis y Síndrome de Sjögren.

En LES existe un número aparentemente ilimitado de anticuerpos contra los constituyentes propios celulares. Estos son componentes nucleares citoplasmáticos de la célula que no son específicos de órgano ni de especie. El LES es el prototipo de una enfermedad multisistémica de origen autoinmune, caracterizada por un conjunto desconcertante de autoanticuerpos, particularmente los ANA. Junto a sus múltiples manifestaciones clínicas se encuentran numerosos autoanticuerpos dirigidos contra diferentes antígenos nucleares, citoplasmáticos y de la membrana celular. ^(Hsia C.E 2007)

Además de los ANA, los pacientes con lupus tienen una serie de otros autoanticuerpos. Algunos están dirigidos contra elementos de la sangre, tales como hematíes, plaquetas y linfocitos; otros están dirigidos contra proteínas, formando complejos con los fosfolípidos.

1.8.1.1.6. **Etiología.**

El inicio generalizado de LES coincide con una agresión (interna o externa) que resulta en daño tisular extenso como el puerperio, la exposición prolongada al sol, las infecciones y los traumatismos. Los antígenos liberados de los tejidos dañados son múltiples, notablemente DNA y otros antígenos intracelulares que normalmente no se encuentran en la circulación y que inician la respuesta inmune a través de los mismos mecanismos que un antígeno exógeno. ^(Amy J. 2010)

Los **factores hormonales** (el predominio del sexo femenino y el pico de incidencia en mujeres en edad fértil es evidencia circunstancial de los factores hormonales en la patogenia del LES). Muchas de las manifestaciones clínicas se deben a los efectos de complejos inmunes circulantes en los distintos tejidos o de los efectos directos de los anticuerpos a los componentes de la superficie celular.

La **predisposición genética** como factor etiológico se desprende de una tasa de concordancia en gemelos monocigóticos de alrededor del 30-50% y las anomalías genéticas, (que pueden crear una tendencia de las respuestas autoinmunes, que luego son provocados por factores adicionales, tales como virus o la luz solar).

Los **factores ambientales** (por ejemplo, la luz ultravioleta y la luz solar): evidencia de fotosensibilidad viene del hecho de que la luz solar puede desencadenar agudizaciones de la enfermedad, particularmente la enfermedad de la piel.

Los **agentes infecciosos** se cree que posiblemente inducen respuestas autoinmunes por mimetismo molecular u otros mecanismos ^(Irigoyen 2006) aún desconocidos.

1.8.1.1.7. **Patología.**

Los complejos antígeno-anticuerpo se producen durante la respuesta inmunitaria normales, pero sólo dan lugar a una enfermedad inmunitaria cuando se forman en cantidades excesivas que no pueden eliminarse con eficacia, por lo que se depositan en los tejidos. La magnitud del depósito de inmunocomplejos en los tejidos depende de la naturaleza de los complejos y de las características de los vasos sanguíneos. Los complejos pequeños no suelen ser fagocitados y tienden a depositarse en los vasos en mayor medida que en los complejos grandes, que a medida son eliminados por los fagocitos.

Las características adicionales a los mecanismos de reacción, que contribuyen a la patogenicidad de los auto-anticuerpos incluyen: la capacidad de fijar complemento, la afinidad por el DNA y otros antígenos que reaccionan cruzadamente, la carga de la molécula de anticuerpo o del complejo inmunitario que lo contiene. ^(Hsia C.E 2007)

Normalmente, los complejos inmunitarios antígeno-anticuerpo son eficientemente removidos de la circulación por el sistema (SRE), que se encuentra principalmente en el hígado y el bazo. EL SRE es dependiente de los receptores para el complemento, para reconocer la Fc de la inmunoglobulina (Ig) o receptores Fc (FcR).

Un combate anormal de los complejos inmunitarios puede estar jugando un papel importante en la patogénesis del LES por diferentes vías, incluyendo anormalidades en los mecanismos de transporte o de presentación celular, defectos en la función del SRE o anormalidades intrínsecas a la función fagocítica celular, los cuales han sido descritos como factores importantes en la fisiopatogénesis del LES.

Los complejos inmunitarios son capaces de ligar el complemento de una forma eficiente, son fijados rápidamente por los eritrocitos, lo cual ocurre a través del receptor eritrocitario para el complemento tipo 1, con lo cual estos complejos de eritrocito-C1 son presumiblemente incapaces de depositarse en los tejidos y son transportados hacia el SRE fijo, donde son eliminados de la circulación.

Los complejos que tienen antígenos catiónicos se unen con avidez a los componentes con carga negativa de las membranas basales de los vasos sanguíneos y los glomérulos renales. Es típico que estos complejos originen una lesión hística grave y duradera.

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 la orina y el equipo 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. Además estos complejos pueden activar las células inflamatorias y los mastocitos para que secretan citocinas y mediadores vasoactivos, que favorecen la adhesión de los leucocitos al endotelio, la permeabilidad vascular y el depósito de inmunocomplejos en las paredes de los vasos debido a la separación de los espacios interendoteliales. (Abbas 2008)

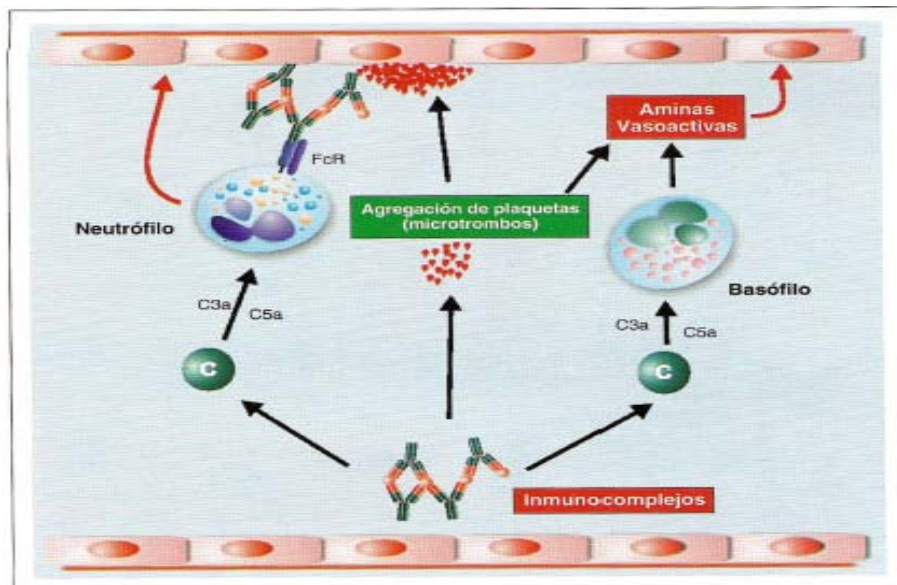


Figura 14. Actividad inmunitaria por inmunocomplejos
www.taringa.net/posts/apuntes-y-monografias/9

1.8.1.1.8. Manifestaciones Clínicas.

Las manifestaciones clínicas del LES son consecuencia del daño tisular (piel, articulaciones, riñón, pulmones, sistema nervioso central, sangre y corazón) debido a la vasculopatía mediada por complejos inmunes. (Tabla 9).

Tabla 9. Manifestaciones Clínicas del LES. (Harrison 2009)

Manifestaciones de LES	Descripción
Manifestaciones Diseminadas	Síntomas generalizados como fatiga, mialgias, artralgias, fiebre, postración, pérdida de peso y anemia, úlceras mucocutáneas, dolor abdominal, además de otras manifestaciones específicas de los, órganos afectados.

Continuación:

Manifestaciones de LES	Descripción
Manifestaciones Hematológicas	La anemia hemolítica con reticulocitosis, leucopenia, linfopenia, trombocitopenia y la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (aFL), los cuales, se relacionan a alteraciones de la coagulación.
Manifestaciones Cutáneas	La alopecia (85% de los casos) y ulceraciones mucosas ocupan el segundo lugar (40% de los casos). Pueden presentarse vasculitis, fotosensibilidad, púrpura, equimosis y petequias. (Habif 2009, Kummur 2008)
Manifestaciones Musculoesqueléticas	Se presentan poliartritis intermitente no erosiva, leve o discapacitante, con edema de los tejidos blandos e hipersensibilidad articular y deformidades, casi siempre de las manos, muñecas y rodillas, miositis, con debilidad muscular. (Habif 2009, Harrison 2007, Kumar 2008).
Manifestaciones Renales	La nefropatía suele ser la manifestación más grave del lupus. La clasificación de la nefritis es básicamente histológica. Los pacientes con un daño glomerular siempre presentan hematuria y proteinuria (>500 mg/24h); el 50% desarrollan síndrome nefrótico e hipertensión. (Habif 2009, Hsia C.E 2007).
Manifestaciones Neurosiquiátricas	Puede estar afectada cualquier área del sistema nervioso central, periférico o autónomo. Se manifiestan convulsiones, estados depresivos y psicosis trastornos cognoscitivos, trastornos emocionales, mono y polineuritis.
Manifestaciones Cardiovasculares	Se producen anomalías valvulares principalmente de las válvulas mitral y aórtica se manifiestan a continuación. (Habif 2009, Hsia C.E 2007). <ul style="list-style-type: none"> ➤ Miocarditis o infiltración de células mononucleares. ➤ Pericarditis en 25% a 30%, a veces asociada con miocarditis. ➤ Valvulopatía mitral o aórtica. ➤ La aterosclerosis ➤ Bloqueo cardíaco congénito en recién nacidos de madres con LES.

1.8.1.1.9. Diagnóstico Clínico.

Las manifestaciones clínicas del LES son consecuencia del daño tisular (piel, articulaciones, riñón, pulmones, sistema nervioso central, sangre y corazón) debido a vasculopatía mediada por complejos inmunes. (Tabla 10).

Tabla 10. Criterios de clasificación del Colegio Americano de Reumatología para LES. (Irigoyen 2006)

Criterio	Clasificación
1. Erupción malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares, con tendencia a ahorrar los pliegues nasolabiales.

Continuación:

Criterio	Descripción
2. Erupción discoide	Erupciones eritematosas, placas elevadas con descamación queratósicas adherente y taponamiento folicular; cicatrices atróficas pueden ocurrir en las lesiones más antiguas.
3. Fotosensibilidad	Erupción cutánea como resultado de una reacción inusual a la luz solar.
4. Úlceras orales	Ulceraciones orales o nasofaríngeas, usualmente indoloras.
5. Artritis.	Artritis no erosiva que compromete dos o más articulaciones periféricas, caracterizada por sensibilidad a la palpación, edema o efusión.
6. Serositis.	a).-Pleuritis - la historia convincente de dolor pleurítico o frote pleural escuchado por un médico o evidencia de derrame pleural b).-Pericarditis - documentada por electrocardiograma o frote pericárdico o evidencia de derrame pericárdico.
7. Compromiso Renal.	a).-Proteinuria persistente superior a 0.5g/24 horas o superior a 3 + (tira reactiva) si no se realiza la cuantificación. b).-modelos celulares - pueden ser de eritrocitos, hemoglobina, granulares, tubulares o mixtos y cilindros.
8. Compromiso neurológico	a. Convulsiones. b. Psicosis.
9. Compromiso hematológico.	a. Anemia hemolítica. b. Leucopenia $< 4000 \times \text{mm}^3$. c. Linfopenia $< 1500 \times \text{mm}^3$. d. Trombocitopenia $< 100.000 \text{ mm}^3$.
10. Alteraciones inmunológicas.	a. Anticuerpos anti-DNA nativo. b. Anticuerpos anti-Sm. c. Anticuerpos antifosfolípidos demostrados por presencia de: 1. Anticuerpos Anticardiolipina de los isotipos IgG o IgM. 2. Anticoagulante lúpico positivo. 3. Serología luética falsamente positiva.
11. Anticuerpos antinucleares.	Un título anormal de ANA por inmunofluorescencia o un ensayo equivalente en cualquier punto en el tiempo y en ausencia de medicamentos conocidos por estar asociados con síndrome similar al lupus. La presencia de ANA es una característica cardinal, pero no es específico para el LES.

No existe una prueba inequívoca para el diagnóstico del LES. Por ello, generalmente se recurre a los criterios de clasificación propuestos por el Colegio Americano de Reumatología (ACR) que son ampliamente aceptados, que fueron diseñados con fines de investigación para permitir la comparación de grupos homogéneos de pacientes en estudios clínicos. Para ser clasificado como LES, un paciente debe tener cuatro o más criterios, pero no se requiere que estén presentes simultáneamente, pueden tener cuatro o más de los criterios y ser equivocadamente considerados como pacientes con LES.

Es preciso enfatizar que estos criterios no son diagnósticos, ya que inicialmente puede haber compromiso de uno o pocos órganos y pueden pasar meses o años antes de que el paciente cumpla cuatro criterios para su clasificación como LES. Algunas ocasiones, enfermedades como la lepra o la endocarditis bacteriana subaguda pueden tener los criterios y ser equivocadamente clasificados como LES otras manifestaciones clínicas que hacen sospechar la presencia de LES. ^(Habif 2009)

En LES los ANA están dirigidos contra el ADN nativo, así como proteínas histonas, ribonucleoproteínas nucleares pequeñas, pero también pueden estar dirigidos contra nucleosomas. En un estudio reciente se evaluó la concentración de anticuerpos anti-nucleosoma (ANS) en donde las correlaciones entre las concentraciones de estos autoanticuerpos y las manifestaciones de daño de órganos, principalmente daños renales fueron evaluados. La aparición de la ANS positivos, anti-DNA de doble cadena y anticuerpos anti-histonas (AH) fueron del 39,2, 28,0 y 47,6%, respectivamente. Además de anti-ADN de doble cadena, la evaluación de la ANS y AH podrían ser útiles en el diagnóstico y seguimiento del LES y ha quedado entre dicho la importancia en la patogénesis de la nefritis lúpica. ^(Kiss E,2009)

Pruebas de Laboratorio pueden ser útiles para su confirmación. También puede ser útil en la evaluación de la enfermedad. ^(Christian 2007)

- Recuento sanguíneo completo.
- Velocidad de Sedimentación Globular (VSG).
- Proteína C-reactiva (PCR).
- Panel químico completo.
- Anticuerpos antifosfolípidos.
- ANA como prueba de tamiz.
- Análisis de orina.
- Tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa).
- Radiografías.
- Electrocardiograma.
- Biopsia renal.

1.8.1.1.10. Tratamiento.

Las opciones de tratamiento son muy amplias y dictada por la gravedad de la enfermedad, las opciones incluyen el uso de medicamentos como: antiinflamatorios no esteroides (AINES), corticoides, hidroxiquina y más medicamentos agresivos como la ciclofosfamida y el micofenolato mofetilo. ^{(Hsia C.E 2007).}

- Los anti-inflamatorios no esteroides (AINES) se utilizan para controlar artralgiás, artritis, Serositis y fiebre.
- La hidroxiquina se utiliza en el control de las lesiones cutáneas, artralgiás, artritis alopecia y malestar general.
- Los corticosteroides tópicos puede ayudar en lesiones aisladas de la piel como la hidrocortisona.
- Los corticosteroides de uso sistémico se usan a dosis variables dependiendo de la severidad de la enfermedad, dosis altas por vía oral se utilizan en el caso de: glomerulonefritis, Sistema Nervioso Central (SNC), pulmonar, afección cardíaca, y daños hematológicos.
- La terapia inmunosupresora: ciclofosfamida y micofenolato de azatioprina.
- Los anticoagulantes en condiciones de trombosis tratamiento con warfarina.

1.8.1.2. SÍNDROMES DE LAS VASCULITIS.

- La vasculitis es un proceso anatomoclínico caracterizado por inflamación y lesión de los vasos sanguíneos. Suele haber afección de la luz vascular y esto se vincula con isquemia de los tejidos que reciben su riesgo sanguíneo del vaso implicado. Las vasculitis pueden circunscribirse a un solo órgano, como la piel, o afectar simultánea a varios órganos y aparatos. (McPherson 2010, 2008)

1.8.1.2.1. Patogenia.

- En general, las vasculitis se incluyen dentro del amplio grupo de las enfermedades por inmunocomplejos. El mecanismo más comúnmente admitido en las vasculitis es el depósito de complejos inmunitarios en las paredes de los vasos, (Fig. 15) aunque no está demostrado claramente el papel causal de los complejos inmunitarios en la mayoría de los síndromes vasculíticos. Los complejos inmunitarios circulantes no tienen que depositarse necesariamente en los vasos sanguíneos y producir seguidamente las vasculitis, y hay muchos pacientes con vasculitis en actividad que no tienen complejos inmunitarios demostrables en la circulación ni depositados en los vasos. (McPherson 2010, Robbins y Cotran 2008)
- El mecanismo de la lesión hística en las vasculitis mediadas por complejos inmunitarios se forman complejos antígenos-anticuerpo con exceso de antígeno que se depositan en las paredes de los vasos, cuya permeabilidad aumenta por la acción de las aminas vasoactivas como la histamina, la bradicina, y los leucotrienos liberados por las plaquetas o los mastocitos consecutivamente a mecanismos desencadenados por la IgE. (Robbins y Cotran 2008)

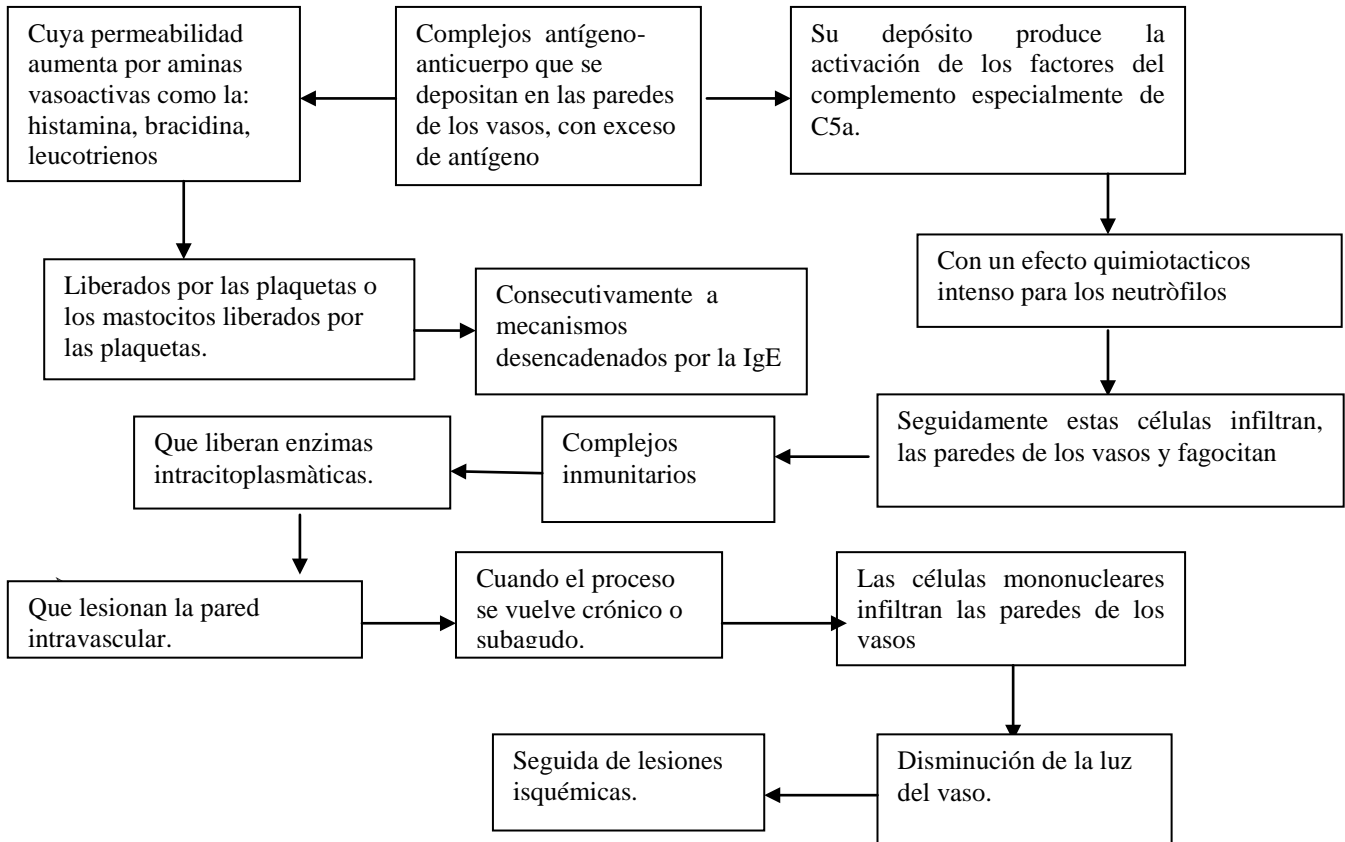


Figura 15. Mecanismo de la vasculitis.

El depósito de los complejos produce activación de los factores del complemento, especialmente de C5a con un efecto quimiotáctico intenso para los neutrófilos. Seguidamente estas células infiltran, las paredes de los vasos, fagocitan a los complejos inmunitarios y liberan enzimas intracitoplasmáticas que lesionan la pared intravascular. Cuando el proceso se vuelve subagudo o crónico, las células mononucleares infiltran las paredes de los vasos. El denominador común del cuadro resultante es la disminución de la luz de los vasos seguida de lesiones isquémicas en los tejidos cuyo riesgo sanguíneo depende de los vasos afectados. Diversas variables ayudan a explicar por qué únicamente algunos tipos de complejos inmunitarios causan vasculitis y sólo algunos vasos se lesionan en cada paciente. Algunas son la capacidad del sistema reticuloendotelial para eliminar complejos circulantes en la sangre, el tamaño y la propiedad fisicoquímica de los complejos inmunitarios, el grado, relativo de turbulencia de la sangre circulante, la presión hidrostática intravascular en los distintos vasos y la integridad previa del endotelio vascular.

La proteínasa 3 y la mieloperoxidasa se trasladan hasta la membrana celular, donde pueden interactuar con el ANCA extracelular. A continuación los neutrófilos se desgranulan y producen una especie de oxígeno reactivo que puede dañar a los tejidos. La activación de neutrófilos y monocitos a través de ANCA induce la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-1 e IL-8.

1.8.1.2.2. Respuestas patógenas de los linfocitos T y formación de gránulomas.

Las células endoteliales de los vasos pueden expresar las moléculas del HLA clase II después de ser activadas por citocinas como el IFN gamma. Ello permite a estas células participar en las reacciones inmunitarias, como es la interacción con los linfocitos T CD4+, de un modo parecido a la forma de actuación de los macrófagos que presentan los antígenos.

Las células endoteliales pueden secretar Interleucina (IL-1), que es capaz de activar a los linfocitos T e iniciar o propagar lo procesos inmunitarios *in situ* en el interior de la pared vascular (Fig.16). Además, la IL-1 y el TNF- α son potentes inductores de la molécula de adherencia del leucocito al endotelio 1 y de la molécula de adherencia a las células vasculares 1 (VCAM-1) que favorecen la adherencia de los leucocitos a las células endoteliales de la pared vascular. ^(Harrison 2007)

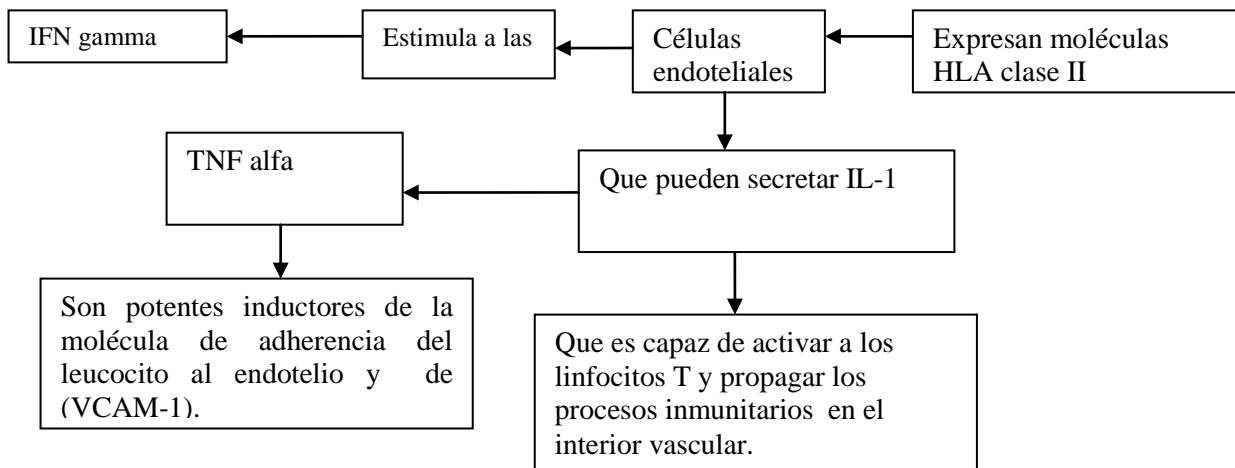


Figura 16. Intervención de la IL-1 en la vasculitis.

1.8.1.3. GRANULOMATOSIS DE WEGENER

La granulomatosis de Wegener es una entidad anatomoclínico especial caracterizada por una vasculitis granulomatosa de las vías respiratorias superiores e inferiores, acompañada de glomerulonefritis. Además, puede existir una vasculitis diseminada de intensidad variable que afecta a venas y arterias de pequeño calibre.

El término ANCA perinuclear (p-ANCA) se refiere al patrón de tinción perinuclear o nuclear más circunscrito de los neutrófilos indicadores. El objetivo principal de p-ANCA es la enzima mieloperoxidasa.

1.8.1.3.1. Incidencia y Prevalencia.

La granulomatosis de Wegener es una enfermedad poco frecuente con prevalencia estimada de tres a 100000. Es sumamente rara en la raza negra en comparación con la blanca; la proporción varón/mujer es de 1:1. Puede observarse a cualquier edad.

1.8.1.3.2. Fisiopatología

Los rasgos histopatológico característicos de la granulomatosis de Wegener son la vasculitis necrosante de las arterias y venas de pequeño calibre, y la formación de gránulomas que pueden ser intravasculares o extravasculares. La afección pulmonar aparece normalmente en forma de múltiples infiltrados nodulares cavilados y bilaterales, que casi siempre en la biopsia típica muestran vasculitis granulomatosa necrosante. Las lesiones de las vías respiratorias superiores, especialmente las de los senos paranasales y la nasofaringe, por lo general relevan inflamación, necrosis y formación de gránulomas con o sin vasculitis.

Más de 90% de los pacientes con granulomatosis típica activa de Wegener posee anticuerpos identificables contra la proteïnasa 3. ^(Harrison 2007)

1.8.2. ENFERMEDAD SISTÉMICA AUTOINMUNITARIA MEDIADA POR ANTICUERPOS.

1.8.2.1. SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDOS (SAF).

1.8.2.1.1. Concepto y Generalidades.

El síndrome antifosfolípidos (SAF) o síndrome del anticuerpo antifosfolípidos es un desorden caracterizado por un estado de hipercoagulabilidad, que favorece las trombosis arteriales, venosas o ambas, siendo los marcadores serológicos de esta entidad, los anticuerpos antifosfolípidos (aFL), anticuerpos anticardiolipina (aCL), anticoagulante lúpico (AL) uno de ellos o ambos.

SAF puede ocurrir como parte de LES o como una entidad aislada idiopática, por lo que puede clasificarse como:

- SAF primario.
- SAF secundario.

Entre el 10% y el 30% de los pacientes con LES tienen anticuerpos antifosfolípidos (aFL), y de esos, 30% al 50% tienen mínimos síntomas y signos apreciables. Por el contrario, alrededor del 50% de los pacientes con SAF ya padecen esta enfermedad. ^(Amy J. 2010)

1.8.2.1.2. Sinónimos.

- Síndrome del lupus anticoagulante.
- Síndrome de los anticuerpos anticardiolipina.
- Síndrome de Hughes

1.8.2.1.3. Características Clínicas.

Tabla 11. Descripción de las características clínicas del SAF.

Manifestación Clínica	Descripción
Trombosis venosa profunda y arterial	Produce accidentes cerebrovasculares y ataques isquémicos transitorios prominentes. Sin embargo, se pueden manifestar infartos en intestinos, corazón, glándulas suprarrenales y las extremidades.
Abortos involuntarios y recurrentes	Ocurre entre el segundo y tercer trimestre muy probablemente se debe a la trombosis de los vasos placentarios, lo que lleva al infarto, insuficiencia placentaria, y un feto pequeño.
<i>Livedo reticularis</i>	Se refiere a un patrón reticular de coloración rojiza y azulada de la piel, por lo general en las piernas. Esta afección está asociada con una hinchazón de los vasos sanguíneos y puede empeorar cuando la temperatura está fría.
Trombocitopenia	Entre 75.000 / mm ³ a 150.000 / mm ³ .
Otros	Preclamsia, anemia hemolítica, migraña severa e hipertensión arterial maligna, entre otras.
SAF catastrófico	Problema grave, a menudo fatal, que se asocia a infartos vasculares múltiples y simultáneos de diferentes órganos. La muerte puede sobrevenir en cuestión de días o semanas. . (Amy J 2010, Tarun J 2010)

1.8.2.1.4. Anticuerpos Antifosfolípidos (aFL).

Tabla 12. Características de los aFL.

Anticuerpos antifosfolípidos	Características
Anticuerpos antifosfolípidos (aFL),	Tienen reactividad contra los FL (moléculas compuestas de lípidos iónicos, con una cabeza de fosfatos y un glicerol unidos a dos moléculas de ácidos grasos) aniónicos de la membrana endotelial, plaquetaria o contra aquellos que participan en la cascada de la coagulación normal. (Forastiero R.2009)
Anticoagulante lúpico (AL)	El AL es una inmunoglobulina que bloquea el complejo protrombina-fosfolípidos, y por lo tanto, la generación de trombina, lo que provoca <i>in vitro</i> una prolongación de las pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos, tiempo de coagulación con caolín, (TTPa), mientras que <i>in vivo</i> producen trombosis venosa y arterial. (Amy 2010)
anticuerpos anticardiolipina (aCL),	Las cardiolipinas son moléculas de fosfolípidos descritas por primera vez en membranas mitocondriales de células cardiacas

1.8.2.1.5. Etiología.

El SAF forma parte del grupo de entidades donde los fenómenos trombóticos son mediados por autoanticuerpos. Es desconocido aún el origen de la respuesta inmune que lleva a la producción de los autoanticuerpos presentes en los pacientes con SAF, se postularon varios mecanismos patogénicos de los aFL:

1.- Una hipótesis sugiere que la exposición permanente de superficies procoagulantes, generadas como consecuencia de activación o daño celular, podría inducir la unión de ciertas proteínas plasmáticas de alta afinidad por los fosfolípidos aniónicos, de esta manera estos complejos se comportarían como inmunógenos los aFL contribuyen al desarrollo de las complicaciones clínicas ya mencionadas anteriormente.

2.- Otra hipótesis plantea la posibilidad de que infecciones virales o bacterianas de tipo subclínica puedan inducir la producción de aFL. Se demostró que ciertos agentes infecciosos contienen péptidos de unión a fosfolípidos con similitud estructural al sitio de unión a fosfolípidos presente en β_2 GPI. Los mecanismos patogénicos que han sido propuestos para los aFL se pueden agrupar en dos categorías: (Forastiero R. 2009)

- 1) efectos inhibitorios sobre los sistemas antitrombóticos fisiológicos.
- 2) efectos que conducen a la activación celular.

1.8.2.1.6. Patogenia de los aFL.

El mecanismo exacto por el cual los aFL pueden dar lugar a trombosis es desconocido, pero se han propuesto varios mecanismos entre los cuales se encuentran los siguientes:

- Inhibición de la activación de la proteína C.
- El AL induce una deficiencia de proteína S.
- Estimulación de las células endoteliales no β_2 GPI, aumenta significativamente la expresión de moléculas de adhesión VCAM-1 e integrinas (citoquinas) creando un estado protrombótico a través del aumento de la formación de tromboxano así como el aumento de las prostaglandinas.
- Varias proteínas plasmáticas se han propuesto como cofactores o proteínas enlazantes de los aFL incluyendo principalmente la β_2 GPI, remoción de anexina A5 de las superficies celulares, proteína C, trombomodulina, proteinglicanos, protrombina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, ácido fosfatídico, fosfatidil-etanolamina, fosfatidilcolina.
- La β_2 GPI funciona como un anticoagulante natural ya que inhibe la vía intrínseca de la coagulación. Los aFL al necesitar de este cofactor, interferirían con las acciones de β_2 GPI, favoreciendo los fenómenos trombóticos. Hoy en día se piensa que los anticuerpos están dirigidos contra epítopes conformacionales que están presentes en la molécula de β_2 GPI (Amy J. 2010 y Pierangeli SS 2008)
- El AL presenta reacción cruzada con los glicosaminoglicanos, los cuales son los principales elementos no trombogénicos derivados del endotelio vascular con unión a la antitrombina III, produciéndose así inhibición de la activación de la antitrombina. (Forastiero 2009)
- La protrombina es otro de los blancos antigénicos de algunos aFL con actividad de AL y del tipo autoinmune. Los anti-PT se asemejan a los anti- β_2 GPI en las condiciones del ensayo necesarias para su detección. (Amy J. 2010)
- Se ha sugerido que los aFL se unen a los fosfolípidos presentes en la superficie externa de la membrana plaquetaria y causan así daño a las plaquetas. Estos anticuerpos podrían unirse a las

plaquetas provocando un aumento de la captación y destrucción por el sistema reticuloendotelial con acortamiento de su supervivencia. (Harrison 2007)

- **Los aFL también interfieren con la actividad del ZPI, (inhibidor de proteasas dependiente de PZ)** (Fig. 17) un sistema antitrombóticos que regula los niveles de factor Xa en una reacción rápida. Este efecto es probablemente debido a que la PZ (cofactor de la inactivación del factor Xa) se une lentamente a los FL aniónicos y por lo tanto la inactivación del Xa por ZPI/PZ es atenuada por la unión de la β_2 GPI a las mismas superficies fosfolípídicas.

De tal manera se postuló que los complejos aFL/ β_2 GPI potenciarían la acción modesta que la β_2 GPI ejerce sobre este sistema como resultado de que los complejos muestran mayor afinidad por los FL que la β_2 GPI sola. Al parecer los aFL modifican la biosíntesis y la expresión celular de moléculas de adhesión, FT y citoquinas. (Forastiero 2009)

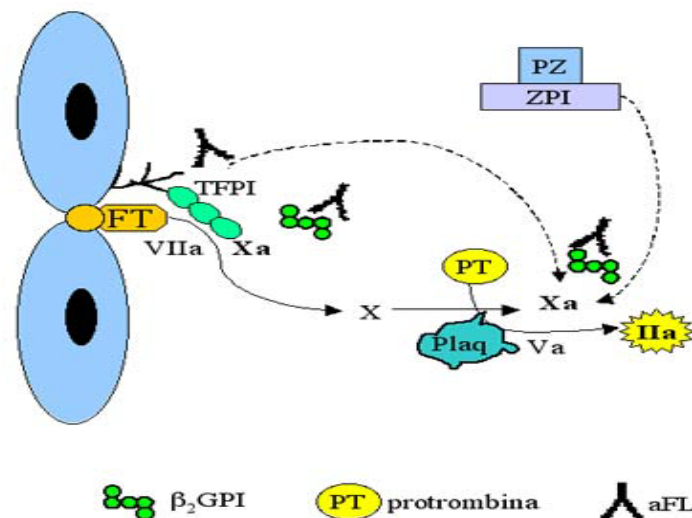


Fig17. Acción de los aFL en los mecanismos antitrombóticos. La β_2 GPI es el cofactor de FL, los cuales en su presencia y Ca^{2+} , se inactiva el factor Xa, lográndose los procesos anticoagulantes, y cuando este se activa se producen procesos trombóticos. (Forastiero 2009)

1.8.2.1.7. Diagnóstico Clínico.

El diagnóstico del SAF se basa en el cumplimiento de criterios clínicos y de laboratorio, se requiere de un criterio clínico y uno de laboratorio. Además la prueba para aFL debe ser positiva por lo menos en dos ocasiones, separadas más de 3 meses.

- Trombosis vascular: uno o más episodios clínicos de trombosis arterial, venosa o de los pequeños vasos en cualquier órgano o tejido.
- Complicaciones del embarazo: una o más muertes inexplicables de fetos morfológicamente normales a las 10 o más semanas de gestación uno o más nacimientos prematuros de neonatos morfológicamente normales a las 34 semanas de gestación o antes, tres o más abortos espontáneos consecutivos inexplicables antes de las semanas.
- Anticuerpos anticardiolipina: anticuerpos anticardiolipina IgG o IgM o presentes en concentraciones moderadas o altas en la sangre en dos más ocasiones a intervalos de al menos 6 semanas de acuerdo con las pautas de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasis (Pierangeli SS 2008)

1.8.2.1.8. Laboratorio.

Cuatro pruebas de aFL son: anticoagulante lúpico, anticuerpos anticardiolipina (aCL), anticuerpos de la β_2 - glicoproteína 1 (β_2 GP1), y el falso positivo de prueba de laboratorio para enfermedades venéreas (VDRL) refleja la presencia de anticuerpos que reaccionan con cardiolipina.^(Amy J. 201) Otra prueba ELISA detecta los anticuerpos anti- β_2 GP1, una proteína plasmática que se une a los fosfolípidos de carga negativa, la aCL en pacientes con SAF se han dirigido a β_2 GP1. Puede funcionar como un anticoagulante a través de su unión a fosfolípidos y por lo tanto la interferencia con su función por los anticuerpos pueden inducir trombosis.

En la prueba de anticoagulante lúpico el TTPa es prolongado, y no se corrige mediante la mezcla con plasma normal (para descartar una deficiencia de factor) sin embargo es, normalizado por adición de fosfolípidos (para compensar por los fosfolípidos atados por el aFL). El hecho de que el TTPa prolongados para corregir con la adición de plasma normal combinado con la corrección del TTPa prolongado por la adición de fosfolípidos define el fenómeno conocido como " anticoagulante lúpico".
(Castro C 2010, Amy J.2010)

1.8.2.1.9. Tratamiento.

Una vez que se ha producido una trombosis, la recurrencia es común, y los pacientes generalmente son tratados por tiempo indefinido con anticoagulantes orales. Aunque algunos subgrupos de pacientes responden únicamente a la aspirina, la mayoría requiere tratamiento con warfarina.

Los regímenes con heparina, la aspirina, la inmunoglobulina intravenosa (IGIV), y prednisona se usan como monoterapia y en varias combinaciones para el tratamiento de embarazos malogrados recurrente. Los pacientes que tienen trombosis vascular recurrente a pesar de la medicación oral anticoagulación adecuada también son tratados de esta manera.

El SAF catastrófico se maneja con una combinación de anticoagulantes, altas dosis de corticosteroides, la plasmaféresis, gammaglobulina intravenosa y en algunos casos, la inmunosupresión con ciclofosfamida o rituximab. Tiene una tasa de mortalidad muy alta.^(Pierangeli SS 2008)

1.8.2.2. ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE.

La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) es causada por hemólisis (destrucción prematura de glóbulos rojos circulantes), inducida por autoanticuerpos, generalmente idiopática, también es asociada con infecciones, trastornos linfoproliferativos, y algunos fármacos.^(Hoffman 2008)

1.8.2.2.1. Sinónimos.

- Anemia Hemolítica Caliente.
- Enfermedad Hemolítica Autoinmune.
- AHAI.
- Enfermedad de las aglutininas frías.

1.8.2.2.2. Manifestaciones Clínicas.

En la anemia hemolítica autoinmune, el cuadro hemolítico es muy variable, desde una hemólisis inaparente que sólo se evidencia por estudios de sobrevida, hasta una hemólisis fulminante de grave peligro.

- Ictericia leve.
- Taquicardia.
- Fatiga, disnea y palidez.
- Malestar general.
- Mareo y vértigo.
- Dolor de espalda y abdominal.
- Esplenomegalia.
- Pérdida de peso.
- Petequias y equimosis.
- Insuficiencia cardíaca.
- Hematocrito bajo (<40 % en varones. <37 % en mujeres).
- Reticulocitosis.
- Cianosis de labios y nariz.
- Esplenomegalia y hepatomegalia.

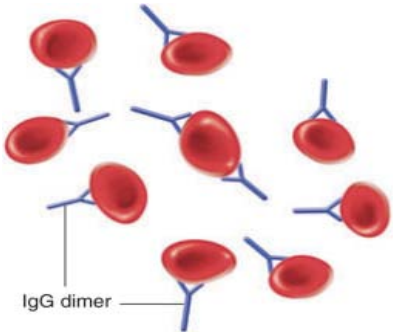
1.8.2.2.3. Clasificación de la AHAI.

Los mecanismos fisiopatológicos de la destrucción en sí son diferentes dependiendo del anticuerpo o inmunoglobulina implicada, que puede ser IgG o IgM, causando hemólisis, extra o intravascular, respectivamente.

En las AHAI en que intervienen autoanticuerpos fríos o IgM, las manifestaciones clínicas incluyen: acrocianosis, que es causada por la aglutinación intracapilar de eritrocitos en aquellas áreas corporales expuestas al frío. A pesar de que los disturbios vasculares oclusivos son potencialmente reversibles (por disociación de los agregados al aumentar la temperatura en la anemia por anticuerpos fríos) pueden llevar a un daño tisular crónico, tal como gangrena.

En la AHAI de Ac. fríos se produce el secuestro de aglutininas o eritrocitos aglutinados en el hígado, debido al C3, que queda después de que la IgM se libera al retornar el glóbulo a la temperatura de 37°C debido a que los macrófagos del hígado y del bazo poseen un receptor para dicha fracción. ^(Hoffman 2008)

Tabla 13. Características de los diferentes tipos de AHAI.

Tipo de AHAI	Tipo de anticuerpos que se unen a eritrocitos	Etiología de Anemia	Definiciones
AHAI por anticuerpos calientes		Idiopática	Idiopática: producida por anticuerpos IgG calientes y componente, C3d del complemento, o ambos, que atacan a la membrana celular de glóbulos rojos, a 37 ° C.
		Secundaria	Producida por anticuerpos calientes producidos por trastornos linfoproliferativos.

Continuación

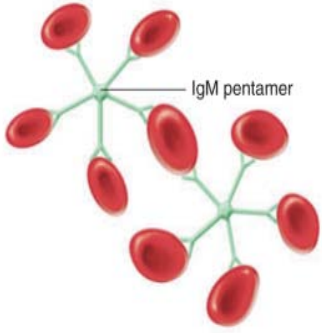
Tipo de AHAI	Tipo de anticuerpos que se unen a eritrocitos	Etiología de Anemia	Definiciones
AHAI por anticuerpos fríos.		Idiopática	El autoanticuerpo IgM tiene una afinidad por los hematíes a bajas temperaturas (0 ° C - 18 ° C) ^(G Dhaliwal 2004, Hoffman 2008)
		Secundaria	Las aglutininas en frío, aglutininas frías o crioaglutininas son anticuerpos IgM que causa aglutinación de glóbulos rojos (Fig. 18) a temperaturas inferiores a 37°C y activan el complemento hasta C3d, con máximas de aglutinación de glóbulos rojos a temperaturas inferiores a 4°C.

Figura 18. A) Unión de IgG unidas a eritrocitos y B) Unión de IgM a eritrocitos. ^(Hoffman 2008)

1.8.2.2.4. Mecanismos Patológicos de la AHAI.

Las mismas teorías sobre autoinmunidad descritas para la **AHAI de anticuerpos fríos son las mismas que la de anticuerpos calientes**, sin embargo la AHAI de anticuerpos fríos son menos frecuentes que el tipo de anticuerpos calientes.

La **primera sugiere** que el cambio fundamental en la patogénesis ocurre en la membrana del eritrocito, que forma un nuevo antígeno, o hace evidente un antígeno intrínseco de manera anormal; y esto induce un estímulo al sistema inmunológico que es esencialmente normal, para responder a ese antígeno alterado.

El **segundo grupo** de teorías se basa en lo opuesto, colocando la anormalidad en el propio sistema inmune. Esto implica que la homeostasis inmune se rompe por pérdida de la capacidad de autorreconocimiento de las células inmunológicamente competentes, bajo circunstancias en que los antígenos eritrocíticos son esencialmente normales, pero a su vez de esta se desprenden varias subteorías en donde se sugieren las siguientes teorías:

Un agente exógeno de tipo infeccioso, origina una respuesta inmune cruzada contra antígenos normales, por parte del sistema inmune normal.

Algunos componentes del complemento particularmente C3 y C4, pueden ser encontrados adheridos a la superficie de los glóbulos rojos en las AHAI. Al transformarse el eritrocito en esferocito se ha perdido superficie de membrana en relación a su contenido, por lo que es inestable osmóticamente, lo que conlleva a hemólisis coloidosmótica intravascular.

1.8.2.2.5. Diagnóstico.

En las pruebas de laboratorio encontramos hemoglobina libre en orina, hemosiderinuria, deshidrogenasa láctica, velocidad de sedimentación elevadas; la bilirrubina indirecta puede ser normal o ligeramente elevada; las haptoglobinas están disminuidas o ausentes; en el frotis podemos encontrar, microsferocito, basofilia, poiquilocitosis difusa, esquistocitos, esferocitos y apilamiento de células rojas ; la prueba de Coombs puede ser positiva, sobre todo si se usa reactivo que contenga anti-C3d, las plaquetas pueden estar normales o ligeramente disminuidas.

El estudio se inicia con pruebas de Coombs directa e indirecta con sueros polivalentes.

La Prueba de Coombs directa determina la existencia de glóbulos rojos recubiertos con moléculas de complemento C3d. (Fig.19)

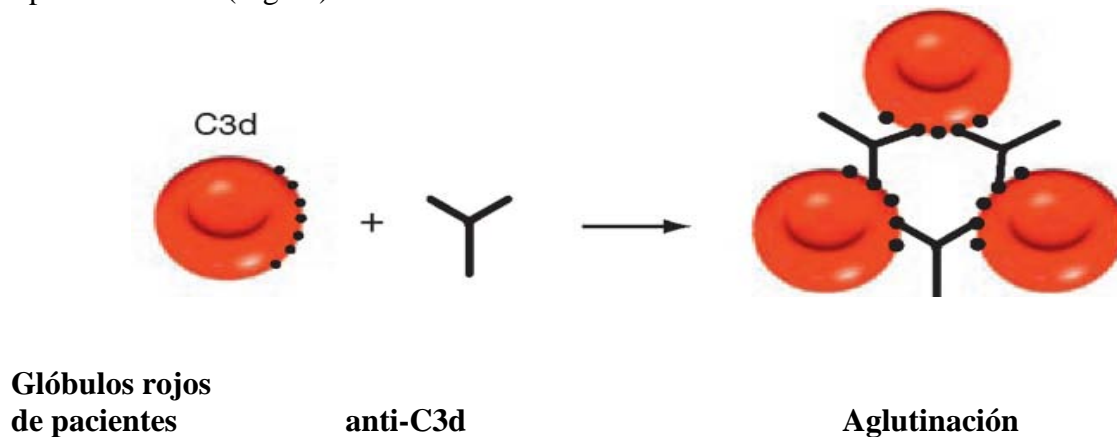


Figura 19. La prueba de Coombs directa (Hoffman 2008)

Prueba de Coombs indirecta

Si alguna de las dos pruebas o ambas son positivas, se debe proceder a la caracterización del anticuerpo (IgG o IgM) y a su identificación a través de antisueros específicos de Coombs anti-IgG o anti-IgM). (Fig.20).

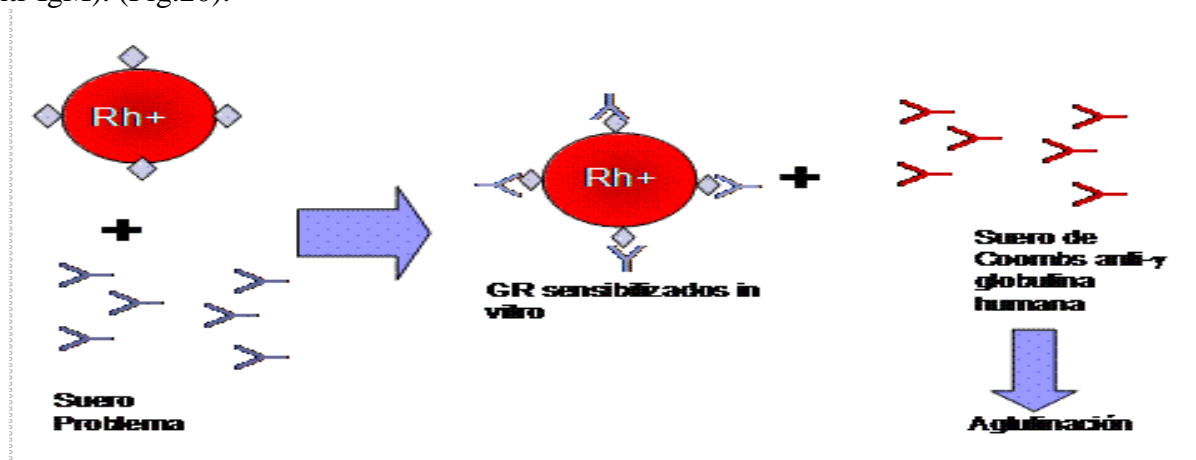


Figura 20. Prueba de Coombs.
(Principios y Práctica de Hematología 2008)

El diagnóstico de AHAI debe cumplir dos requisitos: la evidencia de hemólisis (anemia, más el recuento de reticulocitos elevado en ausencia de pérdida de sangre) y pruebas de autoanticuerpos y activadoras de complemento (por lo general indica una prueba positiva de Coombs directo). Nota: el test de Coombs directo es un falso negativo en un pequeño porcentaje de AHAI.

1.8.2.2.6. **Tratamiento.**

Se establecen como tratamientos de elección los corticoesteroides, la esplenectomía y la quimioterapia de inmunosupresión.

La mayoría de los enfermos reciben prednisona oral, a altas dosis (60-100 mg) todos los días durante la fase inicial del tratamiento, metilprednisolona intravenosa (Solu - Medrol) también se puede utilizar en dosis diarias de 100 a 200 mg. En la población pediátrica, la prednisona se administra a dosis que van de 2 a 6 mg / kg / día. ^(Hoffman 2008)

1.8.3. ENFERMEDADES AUTOINMUNES MEDIADAS POR LINFOCITOS.

1.8.3.1. ARTRITIS REUMATOIDE (AR).

La artritis reumatoide es una enfermedad crónica y multidiseminada de causa desconocida. El signo esencial de la enfermedad es la capacidad de la **inflamación sinovial** para producir una **destrucción del cartílago con erosiones óseas y deformidades articulares** en fases posteriores, se afecta a las **articulaciones periféricas** con una **distribución simétrica**.

A pesar de su potencial destructor; la evolución de la AR puede ser muy variable. Algunos pacientes pueden presentar únicamente un proceso oligoarticular de breve duración y con lesiones articulares mínimas, mientras que otros padecen una poliartritis progresiva e imparable que evoluciona hacia la aparición de deformidades articulares importantes.

1.8.3.1.1. **Epidemiología.**

- La AR es la enfermedad "autoinmune más común, afectando aproximadamente al 1% de la de la población mundial", intervalo de 0.3 a 2.1%.
- Se presenta con una frecuencia casi 3 veces más alta en las mujeres con respecto a los varones.
- La AR se observa en todo el mundo y afecta a todas las razas.
- La incidencia y la gravedad son aparentemente menores en personas de raza negra.
- Es más frecuente durante el cuarto y quinto decenio de la vida, de forma que el 80% de todos los pacientes contra la enfermedad entre los 35 y 50 años de edad.
- La incidencia de la enfermedad de la AR en las mujeres de 60 a 64 años de edad es más de seis veces mayor que en las de 18 a 29 años.

1.8.3.1.2. **Etiología.**

La causa de la AR sigue siendo desconocida. Se ha sugerido que esta enfermedad es una manifestación de la respuesta del hospedador con predisposición genética a un agente infeccioso. Dado la amplia distribución de la AR en todo el mundo se piensa que el microorganismo infeccioso debería ser ubicuo.

Tabla 14. Mecanismos de acción de los factores que intervienen en la etiología de la AR.

Factores	Mecanismos de acción propuestos
Procesos Infecciosos	<ul style="list-style-type: none"> ➤ La infección persistente de las estructuras articulares, provoca retención de los productos microbianos en los tejidos sinoviales, generando una reacción inflamatoria crónica ya que poseen capacidad de unión a determinados segmentos Vβ del receptor heterodimero de la célula T. ➤ La respuesta a microorganismos inducen una reacción inmunitaria contra el colágeno, de tipo II y a las proteínas de choque térmico, alterando su integridad y desenmascarando los péptidos antigénicos. ➤ El microorganismo infeccioso satura el hospedador de determinantes antigénicos con reacción cruzada, que expresa en la superficie articular.
Factores ambientales	El tabaquismo, ha sido identificado como factor de riesgo de AR de todos los posibles factores ambientales es el único que se ha demostrado claramente vinculado al desarrollo de la AR, ambiental y hormonal.
Factores Genéticos	Los principales factores de riesgo genético conocidos para la AR son el alelo HLA DR4, y los alelos relacionados al MHC clase II, los alelos de HLA-DQ puedan representar los genes reales de predisposición. HLA-DR puedan conferir protección frente a esta enfermedad y el complemento de los alelos Además de los polimorfismos en los genes del TNF y en la Interleucina 10, <small>(Amy J. 2010, Harrison 2007)</small>

1.8.3.1.3. Patogenia.

El conjunto de alteraciones entre las que se manifiestan son: **hiperplasia e hipertrofia de las células de revestimiento sinovial, alteraciones vasculares locales o segmentarias** (como lesión microvascular, neovascularización) edema e infiltración por células mononucleares que con frecuencia forman acumulaciones alrededor de los vasos sanguíneos de pequeño calibre. La patogénesis de la destrucción de las articulaciones en pacientes con AR incluye (Fig. 21):

1.-Infiltración celular de leucocitos. Las células endoteliales del tejido sinovial se modifican tras la exposición a las citocinas, facilitando la entrada de las células en los tejidos, las células infiltrantes son las células TCD4+ predominan sobre las células TCD8+ y suelen hallarse también macrófagos y células dendríticas (células presentadoras de antígenos). (Harrison 2007)

2.-Activación de las células T de memoria por reacción a diversos péptidos presentados por las células presentadoras de antígenos en personas con predisposición genética. Las células TCD4+ de memoria son las que se encuentran en mayor cantidad en la sinovial reumática presumiblemente por reacción a los péptidos antigénicos presentados por diversas células con capacidad de presentar antígenos en el tejido sinovial, también se observan células TCD8+ diseminadas por el tejido. La sinovitis reumatoide se caracteriza también por la infiltración de un gran número de células B que se diferencian localmente hacia células plasmáticas productoras de anticuerpos, en el tejido sinovial se producen inmunoglobulinas policlonales y el autoanticuerpo factor reumatoide que determinan la formación local de inmunocomplejos.

3.-Propagación de un ambiente inflamatorio rico en citocinas, por activación de leucocitos, incluyendo macrófagos, las citocinas y quimiocinas, tales como TNF, IL-1 β e IL-6, provocan inflamación hística sinovial, inflamación del líquido sinovial y proliferación sinovial y la lesión cartilaginosa y ósea. (Amy J 2010, Harrison 2007)

4.-La amplificación de la inflamación con la producción local de factor reumatoide e incremento en la capacidad de mediación de la lesión hística. La **membrana sinovial aumenta** de tamaño para formar el tejido de granulación, que comienza a invadir el **cartílago y el hueso**. (Harrison 2007)

La liberación local del contenido de sus gránulos puede que contribuyan a la inflamación. Los fibroblastos sinoviales demuestran la activación en el sentido que producen varias enzimas, como colagenasa y catepsinas que degradan a los componentes de la matriz articular que abundan entre la capa de revestimiento y en la interfase del hueso y cartílago. (Amy J.2010, Harrison 2007)

A continuación se muestra el resumen de los mecanismos patológicos que se llevan a cabo en la AR. (Harrison 2007)

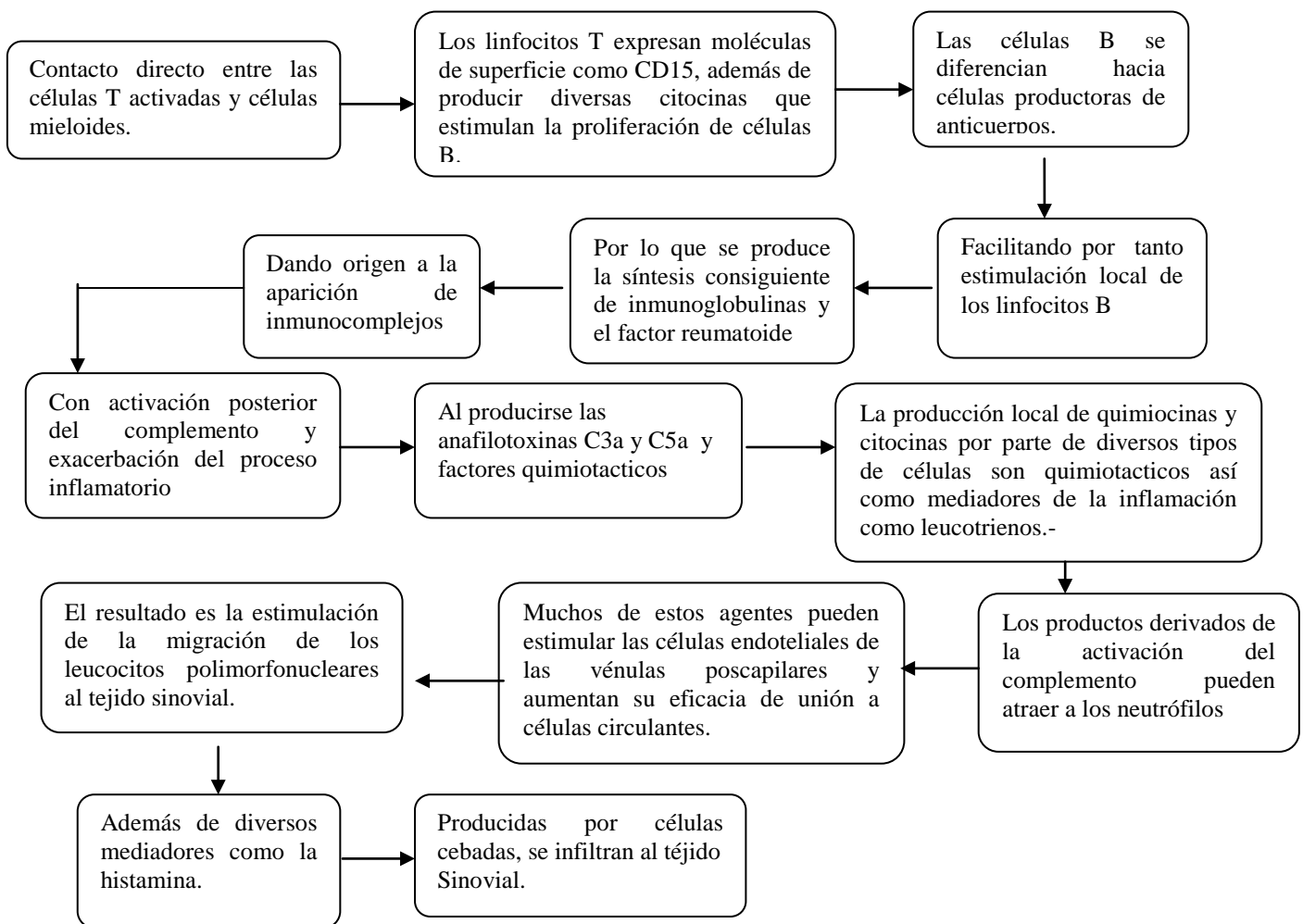


Figura 21. Mecanismo Patológico de la Artritis Reumatoide.

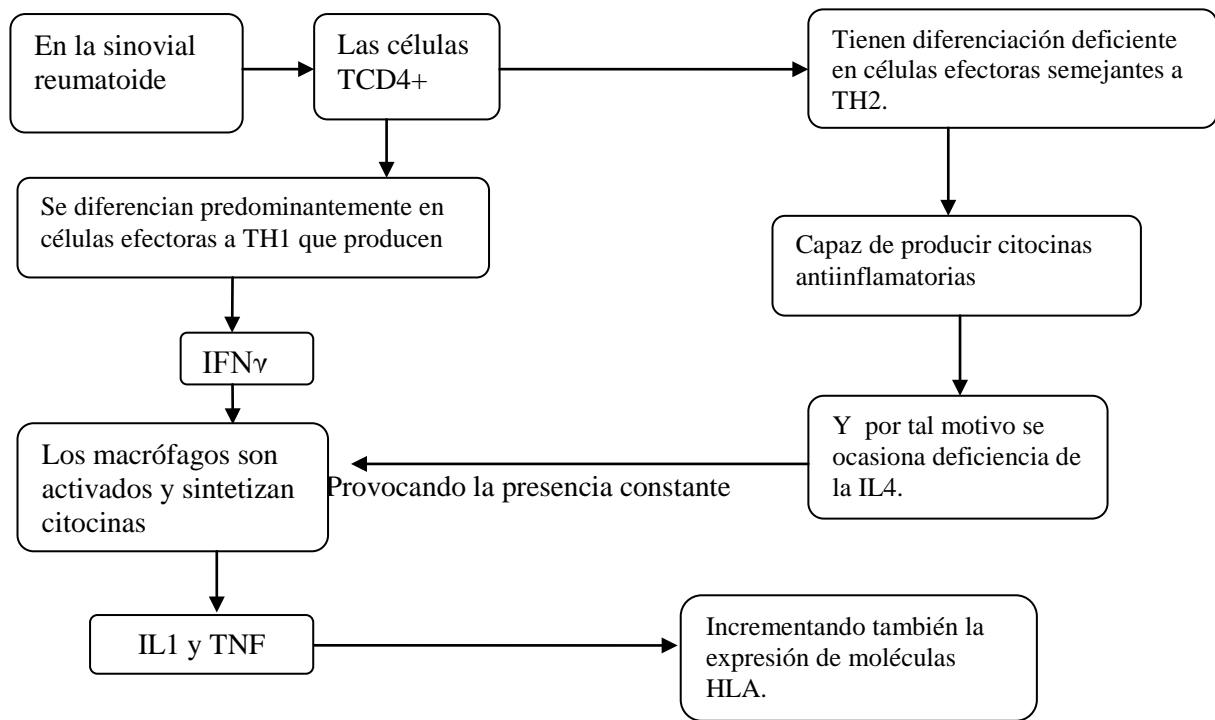
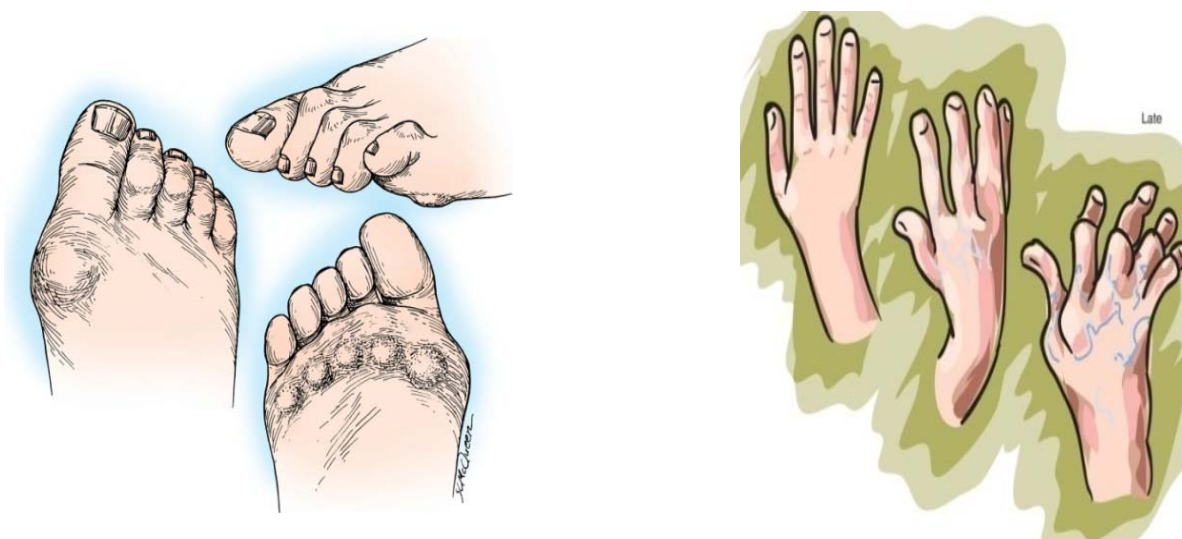


Figura 22. Papel de las citocinas en la destrucción del cartilago.

1.8.3.1.4. Manifestaciones Clínicas.

Es una poliartritis crónica, cuya presentación clínica y curso son variables que en las dos terceras partes de los pacientes comienza de forma gradual con fatiga, anorexia, debilidad generalizada y síntomas musculoesqueléticos (Fig. 23) hasta que se hace frecuente la sinovitis. (Amy J 2010, Harrison 2007)



A) B) **Figura 23.- A) y B) Etapas de evolución de la artritis reumatoide en los pies, y manos** (Canale y Beauty 2008, 6)

- Daño progresivo conduce a deformidades y discapacidad progresiva, hasta que se hace manifiesta la sinovitis, la sinovitis se manifiesta en la interfalángica metacarpofalángica, proximal y articulaciones de la muñeca en una distribución simétrica. ^(Canale y Beauty 2008,)
- Esto se manifiesta como hinchazón, calor, y la pérdida de rango de movimiento y fuerza de agarre en las manos. ^(Canale y Beauty 2008,)
- La AR afecta comúnmente a las rodillas, hombros, tobillos y pies, así como las caderas y la columna cervical (Fig. 24) ^(Amy J 2010, Harrison 2007)
- Nódulos subcutáneos reumatoideos, pulmonares y fibrosis pulmonar intersticial.
- Vasculitis ulcerativa de la piel.
- Síntomas de sequedad de ojos secos y sequedad de boca.
- Síndrome de Felty (triada de la AR, neutropenia y esplenomegalia).
- Temperaturas de mas de 40 grados ^(Canale y Beauty 2008,)

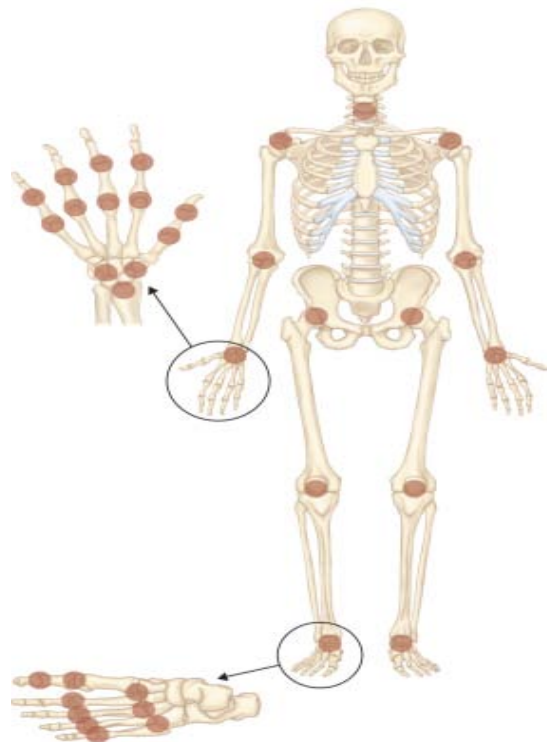


Figura 24. Las articulaciones son afectadas en la AR. ^(Canale y Beauty 2008)

1.8.3.1.5. Diagnóstico Clínico.

El Colegio Americano de Reumatología da los criterios de clasificación para el diagnóstico de la AR, los cuales fueron diseñados incluyendo a los pacientes en estudios clínicos y no clínicos para el diagnóstico de rutina.

Para el diagnóstico de la AR, un paciente debe tener al menos 4 de los 7 criterios del 1 al 14 deben estar presentes durante al menos 6 semanas. El retraso medio desde el inicio de la enfermedad hasta que se establece el diagnóstico es de nueve meses. En la mayoría de los individuos, la enfermedad adquiere sus alteraciones clínicas características al cabo de uno o dos años tras su instauración. ^(Amy J 2010, Harrison 2007)

Tabla 15. Criterios del Colegio Americano de Reumatología para la AR (Amy J 2010, Irigoyen 2006)

1. Rigidez matutina que dura más de 1 hora
2. Inflamación de las articulaciones ≥ 3 observada por un médico, es decir artritis de 3 o más articulaciones durante un mínimo de 6 semanas observadas simultáneamente por el médico.
3. Distribución Simétrica de la participación conjunta,
4. La participación de las muñecas, las articulaciones metacarpofalángica y articulaciones interfalángica proximales, ahorradores de las articulaciones interfalángica distales.
5. FR positivo resultado de la prueba.
6. Nódulos reumatoides en superficies tendón extensor.
7. Cambios radiográficos (osteopenia periarticular y erosiones)

Recientemente, un nuevo biomarcador, que es el autoanticuerpo clave convincentemente asociado con la AR, son los autoanticuerpos contra péptido citrulinado cíclico (PCC). La inflamación activa la enzima deiminasa peptidilarginina, que incorpora la citrulina en ciertas proteínas. La presencia de anticuerpos anti-PCC es de aproximadamente 95% específicas para el diagnóstico de la AR, pero el problema es que no es detectable en todos los pacientes. Las pruebas para detectar tanto anti-PCC y el FR es beneficioso si se excluye el diagnóstico de la AR en lugar de las pruebas de anticuerpos o bien solo. En pacientes con enfermedad indiferenciada temprana, los pacientes anti-PCC positivos tienden a pasar a tener una enfermedad más grave, erosiva y agresiva. (Cader Mz 2010)

El FR, es una IgM policlonal que se une a la IgG, que a su vez esta unida a complejos inmunes, y aumenta las respuestas inmunoinflamatorias. La Citrulinación de las proteínas es una modificación después de la traducción, lo que puede ocurrir como parte normal de la apoptosis de las células. Sin embargo, este proceso puede inducir la formación de anticuerpos en individuos susceptibles, que pueden ser anteriores a la artritis clínica por varios años. Otras pruebas de importancia son PCR, ANA, VSG, ANCA y HLA-DR4. (Castro C, 2010)

1.8.3.1.6. **Tratamiento.**

Los objetivos del tratamiento de la AR son: Alivio del dolor, disminución de la inflamación, protección de las estructuras articulares, evitando su destrucción progresiva, mantenimiento de la función, preservando y mejorando el desempeño de las actividades de la vida diaria y Control de la afección diseminada. Ninguno de las intervenciones terapéuticas tiene carácter curativo y, por ello, todas deben ser contempladas como medidas paliativas encaminadas al alivio de los signos y síntomas de la enfermedad. El tratamiento médico incluye el uso de medicamentos antiinflamatorios no esteroides (AINES), modificadores de la enfermedad fármacos antirreumáticos (DMARDs), y los corticosteroides. El tratamiento no farmacológico, incluyendo la educación del paciente, terapia física, terapia ocupacional, ortopedia y cirugía, es también importante en el tratamiento de la AR. (Harrison 2007)

Sin tratamiento, es la fuente de la incapacidad funcional, mucho dolor, sinovitis, y destrucción de las articulaciones. Sin embargo, puede ser irreversible la destrucción de las articulaciones ya que puede ser impedida por la intervención oportuna de tratamiento durante los primeros meses de enfermedad, el diagnóstico precoz de la artritis reumatoide es importante.

1.8.3.2. ESCLEROSIS SISTÉMICA. (Esclerodermia)

Es una enfermedad conocida desde tiempos de Galeno e Hipócrates, de causa desconocida, crónica, rara, multisistémica, caracterizada **por fibrosis de los tejidos (especialmente engrosamiento o endurecimiento de la piel y vísceras por el exceso de depósito de colágeno)**, vasculopatía de pequeños vasos sanguíneos (en especial fenómeno de Raynaud) incluyendo vasoespasmo y la oclusión microvascular, y de etiología autoinmune. Se describen, dos variedades de esclerodermia: la localizada y la generalizada también llamada esclerosis sistémica progresiva. (Saúl Amado 2005, Kliegman 2009)

1.8.3.2.1. Clasificación.

Tabla 16 – Características de los diferentes tipos de de Esclerodermia.

Esclerodermia difusa sistémica: Sistémica progresiva, afecta a toda la piel y a diversos órganos.
Difusa: se caracteriza por el rápido (< 1-2 años) engrosamiento de la piel en las extremidades, la cara y el tronco en un patrón simétrico; mayor riesgo de afectación visceral temprana. La enfermedad sistémica, sobre todo en la forma difusa, tiene consecuencias graves y es potencialmente mortal.
Limitada: Afectación sistémica cutánea distal, a menudo se enfrentan, con fines, en su caso, la participación del órgano interno.
Esclerodermia Localizada: Son placas esclerosadas más o menos limitadas que pueden presentarse en diversas formas y tamaños.
Morfea o placas: Son pequeñas, gotas esclerodermicas de uno o dos cm, ó placas ovalada de piel dura de 0,5- 12 pulgadas de diámetro, generalmente se encuentran solo en el tronco. La esclerodermia morfea generalizada se encuentran ampliamente distribuidas por todo el cuerpo. <small>(Saúl A. 2005, Kliegman 2009)</small>
También se muestran placas de piel endurecida y atrófica, de tamaños variables; 3, 4, 5 cm o más bien <i>limitadas</i> , de superficie brillante y con alteraciones de pigmento , con más frecuencia se ve con hipocromía en el centro, pero en ocasiones hay zonas hiperocrómicas.
El ainhum es una banda circular de piel esclerosada que se observa en los dedos sobre todo del pie y estrangulan por completo el dedo, produciéndose su amputación
Esclerodermia lineal: Son placas lineales o de banda, de 5 a 10 cm que se extienden siguiendo la longitud de un miembro. En la cara se observa en la frente ó a un lado, una línea en forma de banda de 2 a 3 cm, de ancho, que puede llegar hasta el hueso y es conocida como esclerodermia en <i>forma de sable</i> . <small>(Saúl A. 2005, Kliegman 2009)</small>
Esclerosis visceral
Existe la esclerosis sistémica sin esclerodermia pero con afectación visceral. Puede superponerse con otras enfermedades del tejido conectivo, como lupus y miositis inflamatoria. <small>(Saúl A. 2005)</small>

1.8.3.2.2. Etiología.

Tabla 17. Factores etiológicos de la Esclerodermia.

Factores de causa	Descripción
Infeccioso	Se desconoce pero se habla de factores microbianos, virales.
Fisiológicos	Se piensa en un desequilibrio metabólico entre la serotonina y la monoaminoxidasa que traería como consecuencia la fibrosis. El daño principal es en los vasos de cuyas paredes se formarían sustancias antigénicas capaces de desencadenar un proceso inmunológico que daría como resultado la fibrosis. <small>(Hsia C. E 2007, Saúl A. 2005)</small>
Inmunológicos	Los anticuerpos anti RNA se han detectado hasta en el 90% de los casos sobre todo el tipo nucleolar, dato que parece más específico de la esclerodermia aunque no exclusivo. Alarcón Segovia ha descrito un anticuerpo específico de la esclerodermia generalizada, es un anticuerpo RNA hacia el uracilo. <small>(Saúl A. 2005)</small>
Sustancias Químicas	Las sustancias que se piensa que intervienen en la esclerodermia son las siguientes: <ul style="list-style-type: none"> ➤ El polvo de sílice (de minas), Cloruro de vinilo o polivinilo. ➤ Resinas. ➤ Los hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno, benceno, tricloroetileno). ➤ La pentazocina. ➤ La quimioterapia (bleomicina, vinblastina). ➤ El aceite contaminado de colza - causó una condición como la esclerodermia en 20.000 personas en Madrid en la década de 1980. ➤ La ingestión de L -triptófano que contienen los alimentos, posiblemente debido a un contaminante (síndrome de mialgia eosinofílica).
Genéticos	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Se sugieren vínculos con algunos loci humanos MHC (HLA -A1, HLA- B8, HLA- DR1 HLA- DR3, HLA-DR3/DR52, el HLA- DR5. ➤ Sin embargo, la enfermedad es hereditaria rara vez (<2 % de los casos), vínculos familiares puede depender más de factores ambientales.

1.8.3.2.3. Estadísticas.

- La incidencia de esta enfermedad es de 1-2/100,000 en edades de 35-65 años.
- El predominio es de 10-30/100,00.
- Es inusual en los niños y joven, la esclerodermia localizada es más común en niños y adolescentes.
- La esclerodermia limitada y difusa es más frecuente en las mujeres afroamericanas, la localizada es más común en caucásico que en afroamericanos.
- Relación mujeres/hombres de aproximadamente 3:1. (Amy J. 2010)

1.8.3.2.4. Manifestaciones Clínicas.

Tabla 18. Manifestaciones clínicas de la Esclerodermia.

Tipos de lesiones	Manifestaciones de daños
Lesiones Cutáneas	Piel endurecida, inextensible, sin pliegues, alteraciones pigmentarias de hipo e hiperpigmentación, firme espesa y aspecto brillante, alopecia, sequedad, ardor, picazón de ojos y boca. (Fig. 25) <small>Hsia C.E 2007, Saül A. 2007).</small>
Alteraciones musculoesqueléticas	A nivel de las salientes óseas: codos, rodillas, maléolos, suele depositarse el calcio, produciendo levantamientos duros, bien limitados y dolorosos que al abrirse espontáneamente dejan salir el calcio como polvo seco yesoso. El fenómeno de Raynaud cambios de color, dolor, y / o adormecimiento en los dedos y / o de los pies (o incluso las mejillas, nariz y oídos) en respuesta al frío, el estrés o las vibraciones, <small>(Saül A. 2005)</small>
Lesiones vasculares	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Esclerosis pulmonar con disminución de la ventilación y disnea ➤ Cardioesclerosis e insuficiencia cardíaca que llega a producir la muerte. La pericarditis es sintomática en 10 % de los pacientes, pero presente en el 40-60 % de los casos. ➤ Insuficiencia renal. ➤ Cambios vaginales como sequedad vaginal. ➤ Disfunción eréctil como consecuencia de la afectación vascular. ➤ Cirrosis biliar. ➤ Prolapso rectal y la incontinencia fecal <small>(Hsia C.E 2007, Kliegman 2009)</small> ➤ Disfagia, para los sólidos y luego para los líquidos, regurgitaciones de ácido del estómago produciéndose náuseas, vómitos, distensión abdominal, diarreas o constipación. <small>(Hsia C.E 2007, Kliegman 2009)</small>

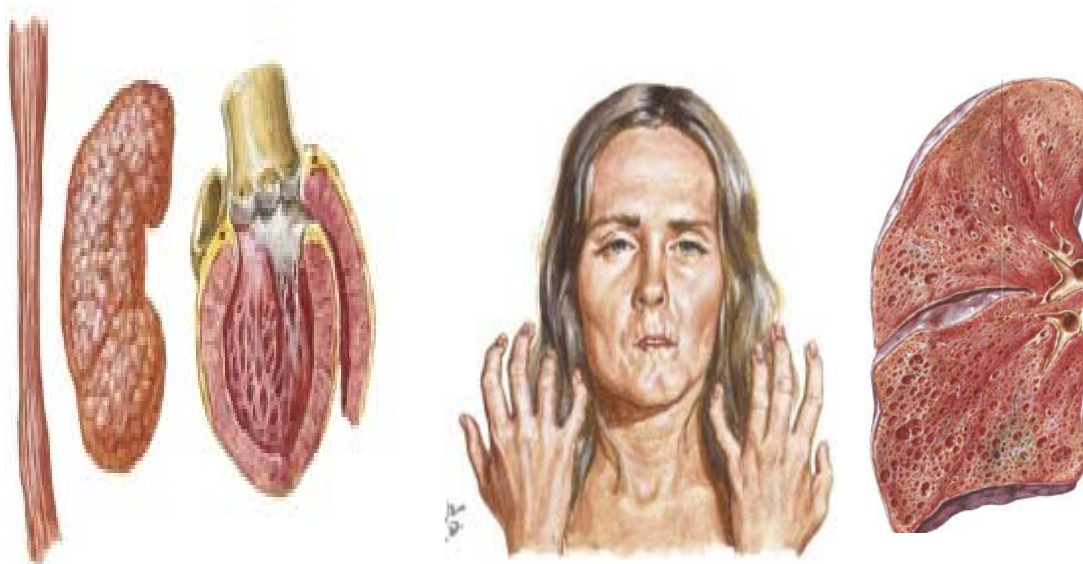


Figura 25. En la esclerosis sistémica se afecta corazón, riñón y pulmón (Runge 2009)

1.8.3.2.5. Patogenia.

El probable desencadenante de la fibrosis excesiva es una combinación de respuestas inmunitarias anormales y daño vascular, como resultado de la acumulación local de factores de crecimiento que actúan sobre los fibroblastos y estimulan la producción de colágeno. Se ha propuesto que las células TCD4+ responden a un antígeno todavía no identificado que se acumula en la piel y liberan citocinas que reclutan y activan células inflamatorias, incluyen mastocitos y macrófagos. Aunque típicamente los infiltrados inflamatorios son escasos en la piel de los pacientes con esclerosis sistémica pueden encontrarse células T CD4+ activadas en muchos pacientes, y se han aislado de la piel células T_{H2}.

Se produce la activación de las células endoteliales en el aumento de los niveles de IL -1, que regula el aumento de la expresión de moléculas de adhesión. La activación plaquetaria causa la liberación de factor de crecimiento del tejido conectivo, el factor de activación de los **fibroblastos, y el TGF- β** . **El TGF- β estimula la síntesis de endotelina y fibroblastos. Los fibroblastos proliferan de manera anormal y también, secretan una mayor cantidad de colágeno y fibronectina.** (Fig.26) ^(Amy J 2010, Kliegman 2009)

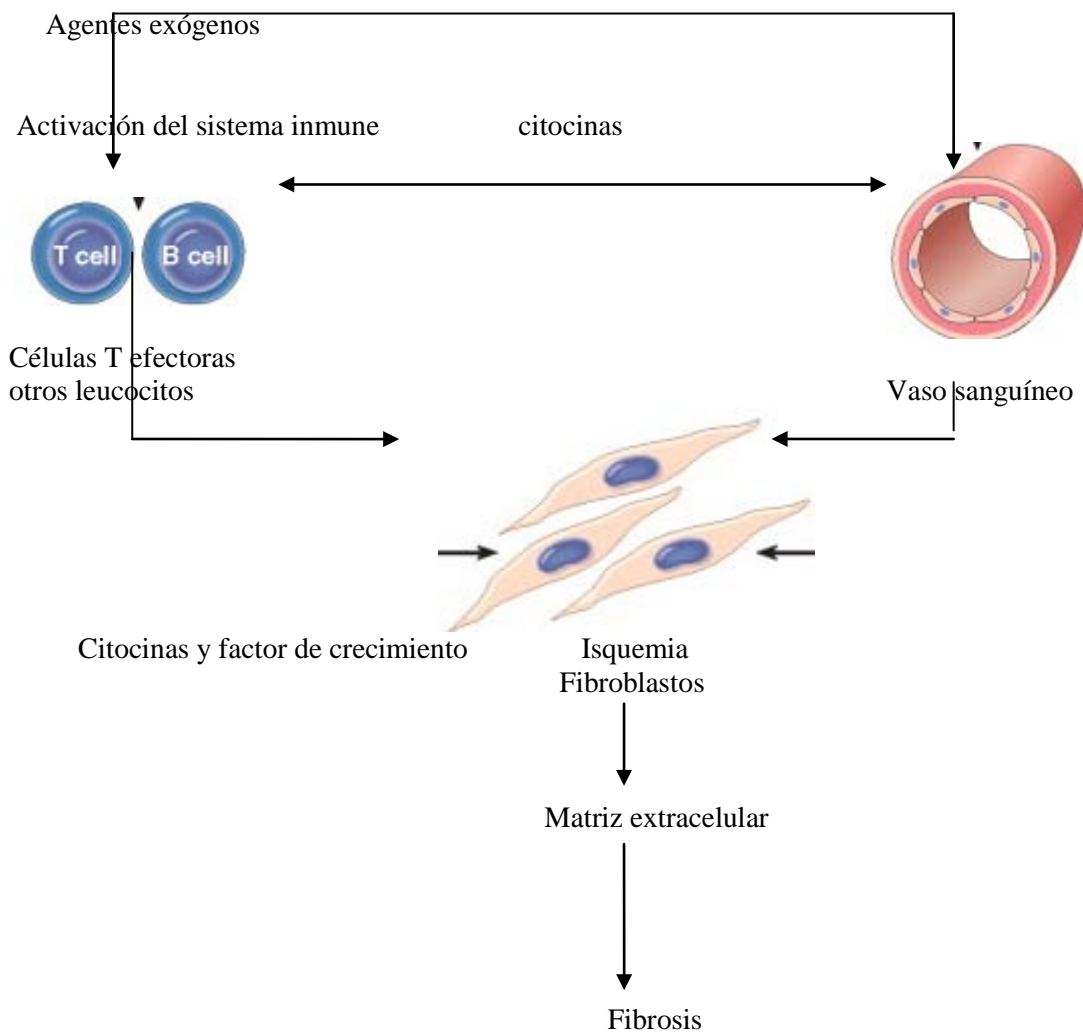


Figura 26. Mecanismo de la Esclerosis ^(Kummar 2009, 27)

1.8.3.2.6. Diagnóstico.

Los ANA se presentan según diversos estudios, entre el 40 y el 90%, pero con títulos bajos. Aproximadamente el 80% de los pacientes tienen ANA en un **patrón centromérico o nucleolar**. Los **anticuerpos anti Centromérico**, está fuertemente asociada con enfermedad del tipo limitada; anti - Scl -70 es más común como enfermedad difusa. Anticuerpo contra a la RNA polimerasa III se asocia fuertemente con la crisis renal, los anticuerpos anti RNA se han detectado hasta en el 90% sobre todo el **tipo nucleolar**, dato que parece más específico de la esclerodermia.

El diagnóstico de Scl se hace sobre bases clínicas, con fenómeno de Raynaud y engrosamiento de la piel como las claves diagnósticas. ACA (anticuerpos anticentroméricos) o pruebas del anticuerpo anti - Scl -70 se puede utilizar para confirmar la sospecha clínica.

En ocasiones, el diagnóstico de " esclerodermia " se hace en el contexto del fenómeno de Raynaud y la alteración de la motilidad esofágica severa sin engrosamiento de la piel, sobre todo si ACA o anti -Scl - 70 está presente. De base pruebas periódicas de función pulmonar y ecocardiogramas son útiles en el control de la enfermedad y orientar el tratamiento. ^(Sally E. 2010)

1.8.3.2.7. Tratamiento.

El tratamiento se limita principalmente a la gestión de los síntomas y terapias experimentales. El tratamiento implica el uso de inmunosupresores y los fármacos que se dirigen a la vasculatura, y se basa en las manifestaciones que están presentes.

1.8.3.3. SINDROME DE SJÖGREN (SS).

El Síndrome de Sjögren (SS) es una enfermedad crónica autoinmune que afecta las **glándulas exocrinas, especialmente las glándulas lagrimales y salivales** (exocrinopatía autoinmune). El SS afecta aproximadamente al 0.3 % al 0.6 % de la población mundial y es una de las enfermedades autoinmunes más comunes y una relación mujeres / hombres de 9:1 y tiene una incidencia máxima en la cuarta y quinta década de vida. ^(Amy J. 2010)

El SS puede ser primario o secundario, el cual está asociado a otra enfermedad autoinmune definida (por ejemplo, LES, AR, o Scl), cuando se denomina SS secundario. ^(Amy J. 2010)

1.8.3.3.1. Manifestaciones Clínicas.

Tabla 19. Manifestaciones clínicas del Síndrome de Sjögren.

Manifestaciones Clínicas	Descripción
Sequedad ocular (xeroftalmia)	Se manifiestan síntomas de molestias oculares y trastornos visuales causados por inestabilidad de la película lagrimal y la inflamación de la superficie ocular. ^(Amy J. 2010)
Sequedad de boca (xerostomía)	Dificultad para comer alimentos secos, la disminución del flujo salival conduce frecuentemente a la presencia de caries dental y enfermedad periodontal acelerado, inflamación de la glándula parótida, que puede ser unilateral o bilateral y suele ser recurrente.(Fig.27)

Continuación

Manifestaciones Clínicas	Descripción
Daños en la piel	Piel seca, púrpura palpable, urticaria, se producen lesiones anulares y las artralgias son comunes.
Vías respiratorias	La enfermedad de las vías respiratorias hiperactivas, enfermedad pulmonar intersticial, hipertensión pulmonar. La neumonía intersticial no específica, es la patología pulmonar más frecuente en los pacientes con SS primario
Complicaciones Gástrico-Intestinales	La disfagia, membranas esofágicas y/o alteración de la motilidad, la gastritis crónica atrófica y la colitis isquémica rara causada por vasculitis son características gastrointestinales de los SS.
Complicaciones Neurológicas	Incluye la meningitis, neuropatía, neuropatía craneal, polineuropatía sensitivomotora y mononeuritis múltiple, el síndrome de neuropatía sensorial pura es característico de la SS primario.
Congénitos	Los bebés de madres con SS con un título alto de anticuerpos contra el SSA / Ro tienen un mayor riesgo de bloqueo cardíaco congénito.
Linfomas	Los pacientes que tienen SS están en riesgo de linfomas, no Hodgkinianos, linfoma linfoide asociado a mucosas asociadas al tumor. <small>(Amy J. 2010, Hsia C.E 2007)</small>

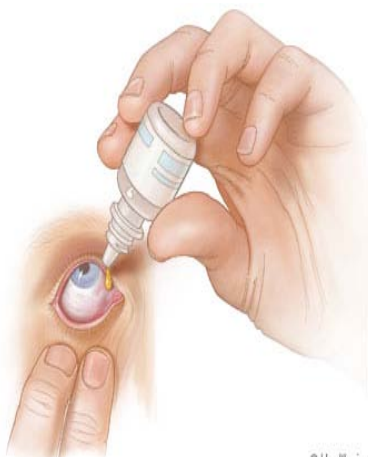


Figura 27. Xeroftalmia y Xerostomía (Kliegman y Kummar 2008)

1.8.3.3.2. **Patogenia.**

La disminución característica de lágrima y saliva (síndrome seco) es el resultado de la infiltración linfocitaria y la fibrosis de las glándulas lagrimales y salivales. El infiltrado contiene células T colaboradoras CD4+ y algunas células B, incluyendo células plasmáticas que segregan anticuerpos localmente.

La evidencia reciente sugiere que las células epiteliales glandulares desempeñan un papel central en la patogénesis de la SS. Las células epiteliales glandulares en los pacientes con SS son inmunemente activas, expresando el MHC de clase I y II y moléculas coestimuladoras B7. Estas células epiteliales liberan citocinas proinflamatorias y quimiocinas que atraen a los linfocitos en las glándulas afectadas, produciendo el característico infiltrado linfocitario con células TH, las células B y células plasmáticas. El evento inicial que estimula la activación de estas células epiteliales glandulares se desconoce, pero las infecciones virales persistentes que podrían desempeñar un papel importante. El VIH y la hepatitis C pueden producir una patología glandular similar a la encontrada en pacientes con SS idiopático, y los pacientes infectados con virus como a menudo tienen síntomas de sequedad y la hinchazón glandular. (Amy J. 2010, Hsia C.E 2007)

1.8.3.3.3. **Diagnóstico.**

Los anticuerpos anti-La están casi siempre acompañados de anticuerpos anti-Ro debido a la asociación física de estas moléculas en Ro / La, partículas ribonucleoproteicas, pero los anticuerpos anti-Ro ocurren con frecuencia en la ausencia de anticuerpos anti-La. Los anticuerpos anti-Ro están presentes en aproximadamente el 70 % y los anticuerpos anti-La en el 40% de los pacientes con SS primario. Los resultados positivos de ANA y FR están presentes en 60 % a 80 % (Amy J. 2010, Hsia C.E 2007)

Para el diagnóstico del SS, se emplean los criterios de clasificación europeos. El diagnóstico de SS primario de acuerdo al actual Grupo de Criterios Europeos requiere que al menos 4 de estos 6 criterios sean positivos los cuales son los siguientes (Irigoyen 2006)

1. Síntomas orales (1 de ellos): Sensación de boca seca durante más de 3 meses, tumefacción recurrente de las glándulas salivares y necesidad de beber líquidos para deglutir alimentos secos.
2. Síntomas oculares (1 de ellos): Sequedad ocular diaria durante más de 3 meses, Sensación de arenilla ocular recurrente y necesidad de usar lágrimas artificiales más de 3 veces al día.
3. Pruebas objetivas de xerostomía. Alteración de glándulas salivares (1 de ellos). Flujo salival sin estimular de 1.5 ml o menos en 15 minutos.
4. Pruebas objetivas de la xeroftalmia.
5. Histopatología: Biopsia de glándula salival menor con proliferación focal de linfocitos.
6. Inmunología (1 de ellos): ANA o FR o Anti-Ro/SS-A o Anti-La/SS-B.

Perfil Inmunológico.

- ANA
- ENA, anti SSA-Ro, anti SSB-La
- C3,C4
- FR

La Xeroftalmía es demostrada a menudo usando el test de Schirmer, en la cual se coloca una tira de papel de filtro estándar de 5 minutos entre el globo ocular y la parte lateral del párpado inferior. El resultado de la prueba es positivo cuando la incontinencia es de 5 mm o menos en 5 minutos. (Amy J. 2010)

1.8.3.3.4. Tratamiento.

El tratamiento para la xeroftalmia es la lubricación con una variedad de suplementos de lágrimas artificiales. Recientemente, la ciclosporina tópica al 0,05% de emulsión ha sido aprobada y se presentan para ser eficaz en pacientes con disminución de la producción de lágrimas causadas por la inflamación, incluyendo aquellos con SS. ^(Amy J.2010)

El objetivo de la administración oral de **secretagogos** es mejorar los síntomas de sequedad en la boca mejor que los síntomas del ojo seco, y su uso está limitado principalmente por sus efectos secundarios colinérgicos de la sudoración y diarrea. Los **esteroides sistémicos** y **citotóxicos** se utilizan principalmente para el tratamiento de las complicaciones extra glandulares, como vasculitis, enfermedad pulmonar y algún compromiso neurológico. ^(Amy J. 2010, Hsia C.E 2007)

1.8.3.4. POLIMIOSITIS Y DERMATOMIOSITIS.

1.8.3.4.1. Generalidades

La dermatomiositis es una entidad nosológica, de causa desconocida y caracterizada por la asociación de síntomas cutáneos y musculares, que manifiestan inflamación y debilidad del músculo esquelético, tal vez de naturaleza autoinmune, de evolución aguda, subaguda o crónica. ^(Saul A. 2005) En sentido estricto debería reservarse el nombre de dermatomiositis cuando existen síntomas cutáneos y polimiositis, cuando existen síntomas musculares sin lesiones cutáneas, aunque se han relacionado con ella, otros tipos de polimiositis. Existen también la PM o DM asociada a enfermedades del tejido conectivo, como Scl, el LES y la Enfermedad Mixta del Tejido Conectivo (EMTC). ^(Amy J. 2010)

1.8.3.4.2. Estadísticas.

PM (polimiositis) y DM (dermatomiositis) son las principales formas distintas de las miopatías inflamatorias idiopáticas, presentan las siguientes estadísticas:

- Una incidencia de aproximadamente 1 de cada 100.000, para PM y DM
- Predomina también en la mujer en una proporción de 2 a 1 y puede afectar todas las edades, hay formas infantiles y juveniles, predomina en dos etapas de la vida: entre 5 y 15 años y entre 50 y 60 años. ^(Amy J. 2010, Firestein 2008)

1.8.3.4.3. Etiología y Patogenia.

Se dice que por lo menos en ciertos casos el daño muscular podría ser debido a la acción agresiva de los linfocitos T, es decir esta enfermedad revelaría una inmunidad humoral deficiente y por el contrario una actividad marcada de la respuesta inmunitaria de la respuesta inmunitaria, celular timodependiente. En la piel se han encontrado depósitos de IgG y complemento en la unión dermoepidérmica por inmunofluorescencia directa, como en el LES y en los músculos IgG, IgM y C3 a nivel de las paredes de los vasos. También las muestras de biopsia muscular de pacientes con PM revelan infiltrados de células TCD8⁺ en el endomisio. Por el contrario, los músculos afectados por la dermatomiositis muestran infiltración de células TCD4⁺ y B en el perimisio y el área perivascular. DM parece ser una vasculopatía con la deposición del complejo inmune y el complejo de ataque a la membrana en las paredes del vaso, las células dendríticas podrían desempeñar un papel importante en el reclutamiento de células T y B.

1.8.3.4.4. Manifestaciones Clínicas.

Se inician poco a poco, con lesiones en la piel: edema y eritema, enrojecimiento palpebral y síntomas de la miositis. Estos casos son muy crónicos e invalidan lentamente a la persona. Fig. 28 ^(Saúl A. 2005)

Tabla 20. Manifestaciones Clínicas en la polimiositis y dermatomiositis.

Manifestaciones Clínicas	Descripción
Manifestaciones cutáneas	El signo más característico es el llamado “halo heliotropo”, de los párpados que consiste en un color eritema violáceo que se presenta sobre todo en los párpados superiores, sin prurito y con discreto edema y descamación, da la impresión de ojeras permanentes. En la cara puede verse edema y eritema difusos, atrofia, pigmentación y telangiectasias en ocasiones la piel se nota un poco endurecida (esclerodermatomiositis). ^(Amy S. 2010, Saúl A. 2005, Firestein 2008)
Manifestaciones musculares	Las lesiones musculares pasan por tres fases: primero edema muscular, después atrofia y finalmente esclerosis los músculos de los ojos produciendo diplopía, faringe y laringe con trastornos de deglución, fonación y cierto grado de disfagia. ^(Amy S. 2010, Saúl A. 2005,)
Lesiones viscerales	Las manifestaciones sistémicas (fatiga, anorexia y fiebre) son comunes. Hasta el 50 % de los pacientes están comprometidos con daños extra musculares, por lo general cardíacos (cardiomiopatía y defectos de la conducción) o pulmonar (alveolitis y debilidad muscular respiratoria). ^(Firestein 2008)



Figura 28. La polimiositis impide a las personas realizar las actividades de rutina diarias. ^{www.netterimages.com}

1.8.3.4.5. Diagnóstico.

El diagnóstico de la PM y DM se basa en la historia y examen físico, centrándose en la identificación de la debilidad muscular proximal y en los marcadores de laboratorio de daño muscular,

Muchos pacientes IIM muestran patrones de ANA moteado nuclear, y alrededor del 10 % de los pacientes IIM también muestran patrones exclusivos citoplasmática en la tinción IFI. Los anticuerpos

anti -Jo -1, se asocian más frecuentemente con polimiositis, otros, como Mi-2, son más frecuentes en la dermatomiositis. ^(Amy J. 2010)

- CK en niveles normales son más frecuente en la dermatomiositis que en la polimiositis. La medición de enzimas musculares séricas, como la **aldolasa, aspartato aminotransferasa (AST), alanina transaminasa (ALT) y lactato deshidrogenasa (LDH)** ^(Firestein 2008)
- Una muestra de biopsia muscular puede mostrar células inflamatorias, fibrosis, necrosis, regeneración y atrofia de las células del músculo confirma el diagnóstico. ^{(Amy J. 2010).}

En un 65% de dermatomiositis y de polimiositis se ha detectado un anticuerpo contra la mioglobulina llamada PM1. Los anticuerpos específicos de miositis más frecuente se orientan a los aminoacil-RNAt. A continuación se mencionan: ^(Saúl 2005)

Tabla 21. Autoanticuerpos presentes en la polimiositis. ^(Firestein 2008)

Autoanticuerpo	manifestaciones clínicas asociadas	Frecuencia en la miositis
Antisintetasa (anti -Jo -1 es más común)	El síndrome antisintetasa : miositis , artritis , fiebre , enfermedad pulmonar intersticial, " manos de mecánico ", fenómeno de Raynaud	20% a 30 %
Lucha contra el SRP	Mialgias y debilidad severa con afectación cardíaca.	<5 %
Anti- Mi-2	Clásico dermatomiositis.	5% a 10 %

1.8.3.4.5. Tratamiento.

Los **corticosteroides** son el pilar del tratamiento, una dosis inicial de **prednisona** diaria de hasta 100 mg. El metotrexato y la azatioprina se utilizan como agentes esteroides, a menudo se inician simultáneamente con corticosteroides a dosis altas o por respuesta inadecuada. Hasta el 90% de los pacientes con PM / DM tienen al menos una respuesta parcial al tratamiento. En pacientes con enfermedad resistente a pesar de los corticoesteroides y el metotrexato o la azatioprina, el éxito del tratamiento se ha reportado con el rituximab drogas que agotan las células B. ^(Amy J. 2010, Firestein 2008)

1.8.3.5. ENFERMEDAD MIXTA DEL TEJIDO CONECTIVO (EMTC).

La enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC) es un síndrome de superposición caracterizado por la coexistencia de las manifestaciones clínicas propia del LES, la polimiositis y la AR, así como por la presencia de títulos muy altos de anticuerpos circulantes dirigidos contra el antígeno RNP nuclear. Este anticuerpo en títulos altos llamado actualmente anti-RNP U1, ha servido de justificación para considerar a la EMTC como una entidad clínica distinta y separada. Pero esta idea ha sido cuestionada por quienes consideran a la EMTC como una simple variedad del LES o de la esclerodermia

Los síntomas iniciales más frecuentes de la EMTC son el fenómeno de Raynaud, artralgias, artritis, trastornos neurológicos, esclerodactilia, telangiectasias, calcinosis, erupción malar, lesiones discoides, alopecia color heliotropo de los párpados, glomerulonefritis membranosa En la EMTC es rara la glomerulonefritis proliferativa difusa, probablemente por la acción protectora que ejercen los títulos altos de los anticuerpos anti-RNP U1. ^(Hsia C.E. 2007)

1.9. TÉCNICAS DE VANGUARDIA UTILIZADAS EN EL LABORATORIO CLÍNICO PARA LA DETERMINACIÓN DE ANA y anti-DNA.

1.9.1. CARACTERÍSTICAS DE UNA TÉCNICA.

Una prueba diagnóstica es una herramienta científica que intenta transformar una forma sugestiva del conocimiento en un concepto.

Una prueba diagnóstica es aquella que se realiza durante el periodo de estudio, la clave en la interpretación de las pruebas diagnósticas es calcular a qué probabilidad de la enfermedad corresponde el hallazgo clínico.

Aquellas que se hacen a posteriori (durante el seguimiento) se llaman prueba pronóstica

El dominio del proceso del diagnóstico estriba en dos aspectos fundamentales, la estimación adecuada de probabilidades, pre prueba en cada paciente y el conocimiento del rendimiento operativo (sensibilidad y especificidad).

Sensibilidad, es decir a lo que ya es positivo.

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad que un sujeto enfermo obtenga en la prueba un resultado positivo. La sensibilidad es por lo tanto la capacidad del test para detectar la enfermedad.

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

Especificidad, es decir lo que es negativo este es su enfoque.

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{FN}}{\text{VN} + \text{FP}}$$

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo. En otras palabras se puede definir la especificidad como la capacidad para detectar a los sanos.

Los ANA son la determinación más utilizada para apoyar el diagnóstico de enfermedades reumatológicas y autoinmunes, es una prueba de tamiz, escrutinio o “screening” que nos permite evidenciar autoanticuerpos dirigidos contra componentes de la célula: núcleo, citoplasma, citoesqueleto y membrana. ^(Quintana G. 2005). Clásicamente, los ANA son utilizados para el diagnóstico serológico de LES, pero utilizar a los ANA es común en las enfermedades autoinmunes. Los procedimientos de ensayo se realizan en gran medida, a las necesidades y posibilidades de cada laboratorio entre los métodos más utilizados son (Tabla 22): ^(Castro c 2010)

- Quimioluminiscencia (QL).
- Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)
- ELISA.

Tabla 22: Características de las técnicas empleadas en la determinación de ANA y anticuerpos anti-DNA.

Características	Quimioluminiscencia	IFI	ELISA
Aparato	luminómetro	Microscopio de fluorescencia.	Espectrofotómetro
Unidades	Unidades Relativas de Luz	Se realizan diluciones empezando 1:60	Absorbancia
Ventajas	Precisión Abarata costos Calidad Eficacia Baja reactividad cruzada Velocidad Multianalítico	Nos permite observar patrones celulares lo que nos lleva a determinar que grupo de ANA presenta el paciente y que enfermedad.	Ensayo sensible reactivos baratos de una larga vida, Útil múltiples ensayos simultáneos.
Desventajas	Dependencia directa del equipo automatizado	El error humano puede interferir en la técnica, operador dependiente, es fundamental la experiencia del observador y no es óptima para analizar múltiples muestras	La actividad enzimática puede ser afectada por componentes del plasma. Para determinar un antígeno en específico se tendrá que confrontar una sola muestra contra varios antígenos.
Marcador	Anticuerpo monoclonal de ratón está enlazado a un derivado de isoluminol.	Fluorocromo Isotiocianato de fluoresceína	Anti-inmunoglobulina humana Enzima fosfatasa alcalina Sustrato:monofosfato de fenoltaleína
Sensibilidad y especificidad	Específica y sensible	Específica	Sensible
Antígeno	Emplea una fase sólida como macropartículas paramagnéticas impregnadas con los antígenos DNA, Ro, La, Scl-70, histonas, etc..	Placas con línea celular HEp-02	Placas de poliestireno recubiertas con macerado (principalmente núcleos de la línea celular HEp-02)
Fundamento	El sustrato el cual es una molécula quimioluminiscente y un oxidante en presencia de algún catalizador reaccionan para formar un producto o intermedio de la reacción, en un medio básico, después el producto pasa a un estado electrónicamente excitado. Emisión de luz visible debido a una reacción química producida por la oxidación del éster de acridina.	El fluorocromo al ser excitado por luz UV absorben a una longitud de onda, se excitan los electrones y entran en resonancia y suben a orbitas de mayor energía y cuando regresen de nuevo a su estado basal, emiten energía a otra longitud de onda resultado una tinción de color verde.	En el método indirecto el antígeno reacciona con el anticuerpo específico. El complejo antígeno-anticuerpo es entonces detectado por un segundo anticuerpo que reconoce dominios constantes de anticuerpos. Este anticuerpo, está marcado enzimáticamente.

1.9.2. PATRONES CÉLULARES DE LOS ANA EN CÉLULAS HEp-02 POR IFI.

Por esta técnica se han establecido una serie de patrones “clásicos” de IFI. A continuación se describen las características de los patrones que con mayor frecuencia se detectan por IFI en células HEp-02 en sueros de pacientes con enfermedades autoinmunes. ^{(Cabiedes J 2009).}

1.9.2.1. ANCA.

La IFI sobre neutrófilos fijados con etanol muestra dos patrones fundamentales de ANCA, el etanol produce disrupción de los gránulos de los neutrófilos y migración de la mieloperoxidasa hacia la periferia del núcleo. Las improntas fijadas son positivas tanto para ANCA-c y ANCA -p.

1. **Etanol** produce disrupción de los gránulos de los neutrófilos y migración de la mieloperoxidasa hacia la periferia del núcleo. Según la especificidad del ANCA presente se evidencia ANCA-c y ANCA-p.
2. **Formaldehido:** las improntas fijadas con etanol, si se obtiene una imagen positiva se debe utilizar luego una impronta fijada en formaldehido. Los ANCA-c se caracterizan por una tinción brillante, con gránulos gruesos en el citoplasma de los neutrófilos. ^(McPherson 2006, Castro C 2010, EUROIMMUN)

Los ANCA-p se caracteriza por una tinción perinuclear (Fig. 29) en etanol el antígeno específico de ANCA-p se solubiliza, migra y se une a la membrana nuclear. Este patrón se asocia a glomerulonefritis idiopática, vasculitis sistémicas idiopáticas, Síndrome de Goodpasteur, LES inducido por hidralazina, EMTC, Hepatitis autoinmune.

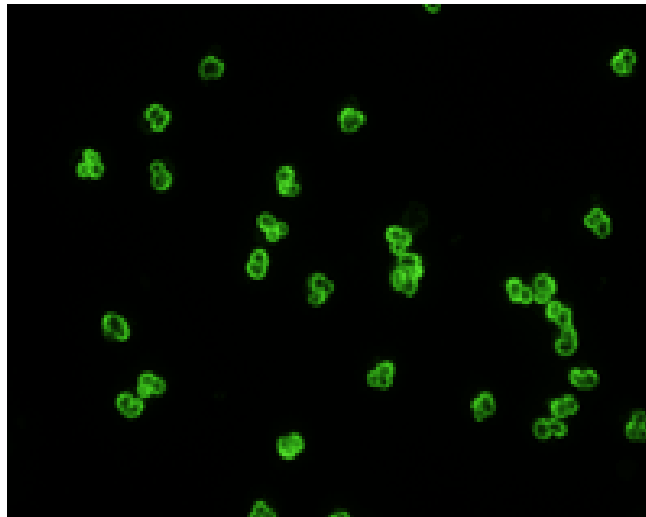


Figura 29. Patrón ANCA-p ^(Euroimmun 2008, 13)

En este Patrón ANCA-c se tiñe el citoplasma del neutrófilo, (Fig. 30) al utilizar neutrófilos fijados con formalina, los ANA suelen negativizarse o hacerse perinucleares, mientras que los ANCA-p cambian su tinción a granular citoplasmática. Este patrón se produce por anticuerpos dirigidos contra la proteínasa 3 (PR3) serinproteínasa contenida en los gránulos ^{(McPherson 2006, Castro C 2010, EUROIMMUN}

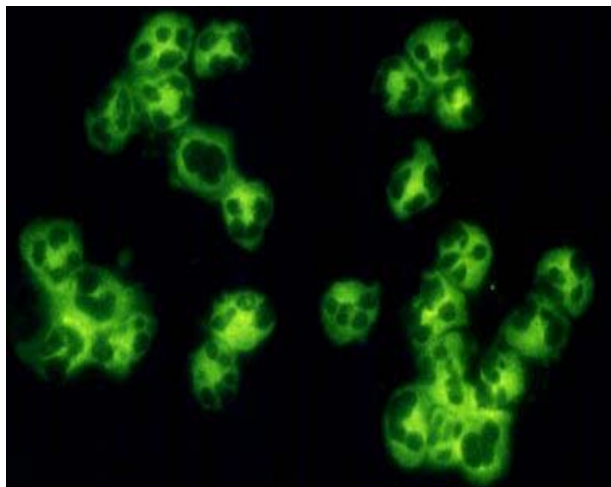


Figura 30. Patrón ANCA-c ^(Euroimmun 2008, 13)

1.9.2.2. Anticuerpos anti-DNA por *Crithidia luciliae* (hemoflagelado) IFI.

La *Crithidia luciliae* (hemoflagelado) con un cinetoplasto (mitocondria gigante-reconoce DNA–doble cadena), (Fig. 31) al cual se unen los anticuerpos contra la cadena de DNA. Originalmente los anticuerpos anti-DNA fueron descritos en pacientes con LES, aunque no es un marcador exclusivo de la enfermedad, este es considerado de buen pronóstico, aunque algunos pacientes con otras enfermedades reumáticas o hepatitis crónica activa, podría haber aumentado ligeramente o moderadamente títulos séricos. ^(Castro C. 2010)



Figura 31. *Crithidia luciliae* positiva a DNA ^(Euroimmun 2008,13)

1.9.2.3. Patrón Homogéneo.

Una tinción suave y uniforme del núcleo y una fuerte tinción cromosómica homogénea en células en metafase mitótica pueden indicar anticuerpos de DNA o histonas. Las altas titulaciones de ANA homogéneo sugieren LES por drogas, mientras que las bajas se encuentran en, AR, SS y EMTC. Se caracteriza por una tinción homogénea en el núcleo, cuya intensidad puede variar dependiendo de la concentración de los anticuerpos presentes en el suero. (Fig. 32) (Cabiedes J, 2009, McPherson 2006)

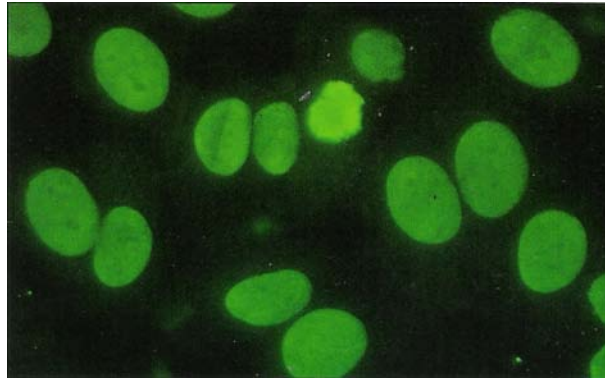


Figura 32. Patrón Homogéneo (Eurimmun 2008, 13)

1.9.2.4. Patrón Moteado Grueso y Fino.

Este patrón se caracteriza por gránulos finos o gruesos, (Fig. 33) los nucléolos, están teñidos y no existe los componentes de la cromatina. Los modelos moteados pueden deberse tanto al antígeno Smith (Sm) como a las RNP. El patrón moteado nucleoplasmico es característico de autoanticuerpos dirigidos contra el anti-U1nRNP. Los anticuerpos anti-Sm han demostrado ser altamente específicos para pacientes con LES y los anti-RNP se hallan en: LES, AR, SS, y EMTC. (Cabiedes J, 2009)

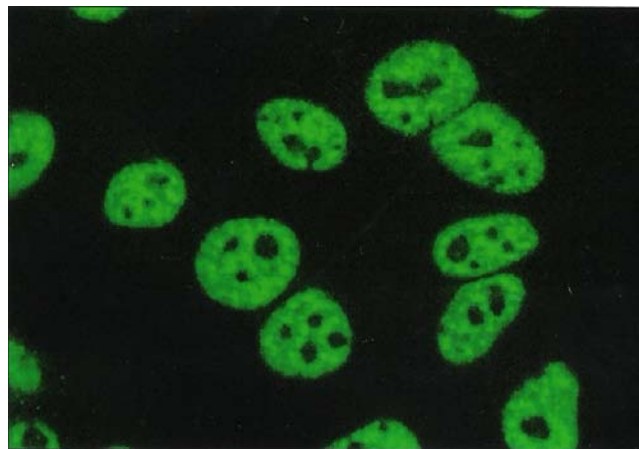


Figura 33. Patrón Moteado Grueso y Fino (Euroimmun 2008, 13)

1.9.2.5. Patrón citoplasmático.

Los anticuerpos antimitocondriales (AMA) están presentes en el 85-95% de la CBP. También se encuentran en un 25-30% de los casos de hepatitis crónica activa y en cirrosis criptogénica. En hepatitis inducida por drogas, en hepatitis viral, en cirrosis alcohólica, en malignidad hepática y otras enfermedades del colágeno. (Fig. 34). (Cabiedes J, 2009, McPherson 2006)

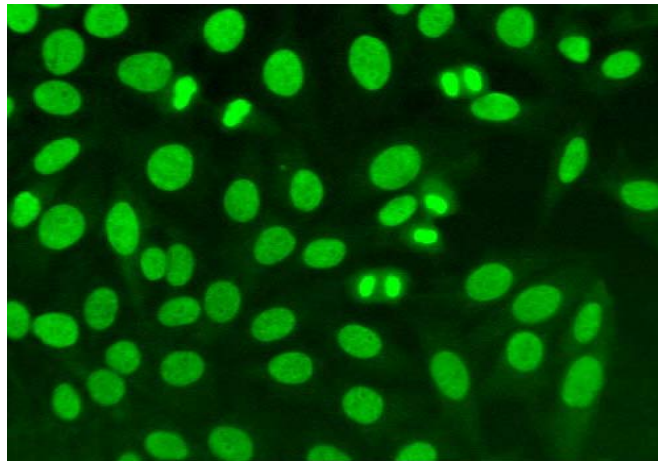


Figura 34.- Patrón citoplasmático (Euroimmun 2008, 13)

1.9.2.6. Patrón Periférico.

Se caracteriza por tinción o fluorescencia regular alrededor del núcleo (Fig. 35): el centro de este patrón muestra menos tinción. La placa de la cromatina se tiñe de la forma delineada o compacta. El modelo periférico está altamente asociado a pacientes con LES en la fase activa de la enfermedad y no se ha detectado en sueros de pacientes con otras enfermedades) (EUROIMMUN, Cabiedes J, 2009)

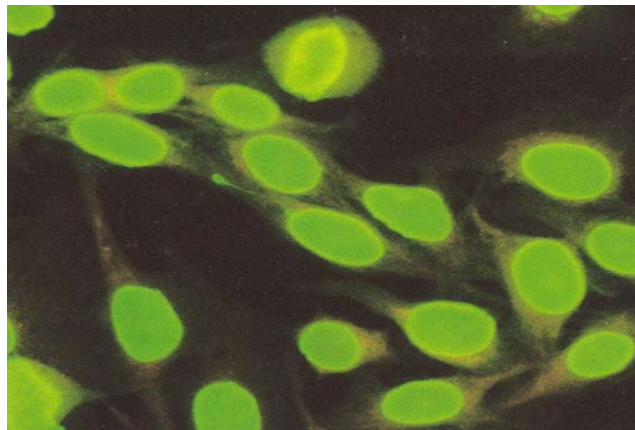


Figura 35. Patrón Periférico (Cabiedes J, 2009)

1.9.2.7. Patrón nucleolar

Autoanticuerpos ARN-polimerasa que provocan en células HEp-2, motas nucleolares y puntos a lo largo de algunos ejes de las células en metafase (flecha) (Fig. 36). Tiene como característica una tinción intensa de los nucléolos. La tinción sólida de los nucléolos, generalmente de número reducido, reflejan anticuerpos anti-RNP. (Figura 36).

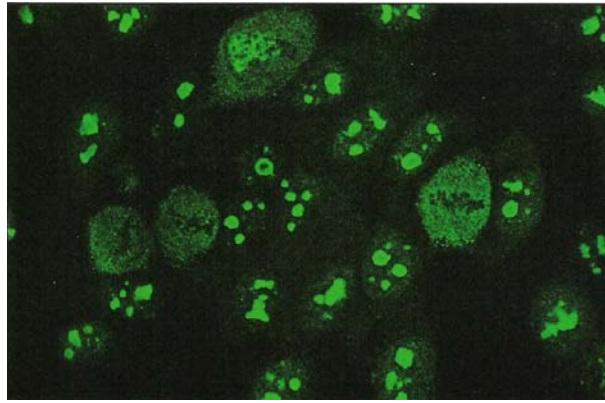


Figura 36. Patrón nucleolar (Euroimmun 2008, 13)

1.9.2.8. Patrón Centromérico.

El moteado discontinuo de los núcleos de la célula HEp-02 en metafase e interfase demuestra la actividad de anticuerpos anti-cromatina centromérica (Fig. 37). El anticuerpo anticentrómero parece ser altamente selectivo para la variante CREST y cirrosis biliar primaria (CBP). (Cabiedes J, 2009, McPherson 2006)

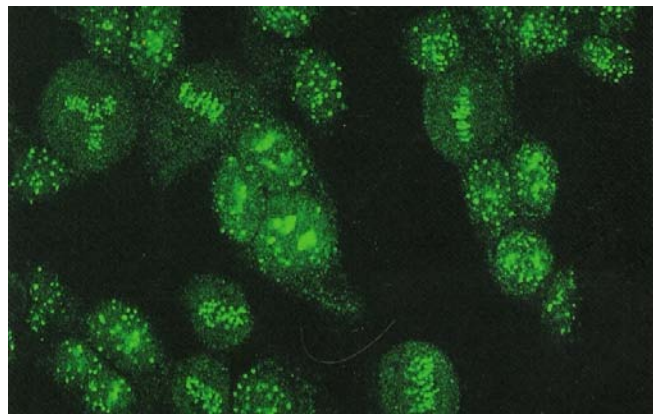


Figura 37. Patrón Centromérico (Euroimmun 2008, 13)

2.-JUSTIFICACIÓN.

El motivo del avance de la ciencia se debe a la búsqueda insaciable del conocimiento cada vez mejor y que se plasma en la mejora de diferentes procedimientos aplicados en diferentes áreas siendo de gran relevancia en el área de la salud.

Los estudiantes de licenciatura de Químico Farmacéutico Biólogo (Q.F.B) y de la licenciatura de Bioquímica Diagnóstica, deben de conocer las técnicas más empleadas en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes.

La determinación de ANA y anticuerpos anti-DNA, son herramienta fundamental en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, por lo que la detección correcta y de la manera más segura de estos es de suma importancia, para ayudar al Médico en su diagnóstico.

La metodología de cada laboratorio clínico, para la determinación de ANA y anticuerpos anti-DNA es diferente, pero sin embargo existe la incertidumbre en algunos, con respecto a que los resultados que obtienen son confiables, por lo que es importante dar a conocer un modelo con el que se pueden obtener resultados óptimos.

Muchos estudios se han realizado, en los que se trata de sustituir una técnica por otra, los cuales se basan principalmente comparando una técnica contra otra, pero es importante hacer saber y demostrar que las 3 técnicas más utilizadas no tienen por que ser utilizadas por separado sino que pueden ser utilizadas en conjunto.

Los laboratorios clínicos, para la determinación de ANA y anti-DNA optan por utilizar un solo tipo de técnicas las mas utilizada es IFI, confiando fielmente en ella y algunos otros utilizan solo ELISA, y muy pocos utilizan quimioluminiscencia.

Las técnicas de QL, IFI y ELISA, para la determinación de ANA y anticuerpos anti-DNA, no necesariamente tienen que ser empleadas de forma individual, si las tres pueden ser empleadas, de forma complementaria, con la base de emplear a la QL, como técnica o prueba de tamiz.

La QL puede funcionar adecuadamente como técnicas de tamiz, para obtener las muestras positivas y las negativas posteriormente son analizadas por la técnica de IFI y finalmente por ELISA, para obtener resultados más confiables y la detección de las muestras positivas de la manera más rápida.

La determinación de ANA y anticuerpos anti-DNA junto con los diferentes biomarcadores, tales como la VSG, conteo de plaquetas, y niveles de las proteínas C3 y C4 del complemento, el diagnóstico de enfermedades autoinmune, son de gran significado clínico.

3.-HIPÓTESIS.

Si la unión de las técnicas de QL (como técnica de tamiz), IFI y ELISA, es la mejor metodología a seguir en la determinación e identificación correcta de ANA y anticuerpos anti-DNA, y junto con los biomarcadores VSG, plaquetas; y proteínas C3 y C4, entonces el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, será más confiable.

4.-OJETIVO GENERAL.

Unir las técnicas de QL, IFI y ELISA, en la determinación de ANA, y anticuerpos anti-DNA para demostrar que con esta metodología se amplían ventajas y se eliminan desventajas de cada una de estas y junto con los biomarcadores: plaquetas, VSG, proteínas del complemento; C3 y C4 el diagnóstico de enfermedades autoinmunes es más específico y confiable.

5.-OBJETIVOS PARTICULARES.

- 1.- Utilizar la técnica de QL como prueba de tamiz para la determinación de ANA y anti-DNA.
- 2.-Analizar por técnica de IFI las muestras séricas que resulten positivas a ANA y anti-DNA por QL, para identificar por medio de los patrones de inmunofluorescencia el tipo de ANA.
- 3.- Determinar por la técnica de ELISA, las muestras que resulten positivas a IFI para identificar el o los, antígeno (s) específico (s) contra los que existen anticuerpos en estas muestras séricas, tales como: Jo, La, Ro, Sm y Scl-70.
- 4.-Demostrar que las técnicas de QL, IFI y ELISA, son complementarias.
- 5.-Demostrar que el sexo femenino es el más afectado en este tipo de enfermedades autoinmunes.
- 6.-Relacionar los parámetros de VSG, plaquetas y las proteínas del complemento C3 y C4 para apreciar como se alteran estos en las enfermedades autoinmunes, y que son herramienta básica en el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes.

6.-METODOLOGÍA.

DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN.

Han sido analizadas las muestras séricas de una población de 1478 pacientes del sexo femenino y masculino, con la sospecha de presentar alguna enfermedad autoinmune, las cuales fueron analizadas utilizando como prueba de tamiz a quimioluminiscencia, y de las cuales solo 312 dieron positivas a QL, posteriormente analizadas por IFI y ELISA.

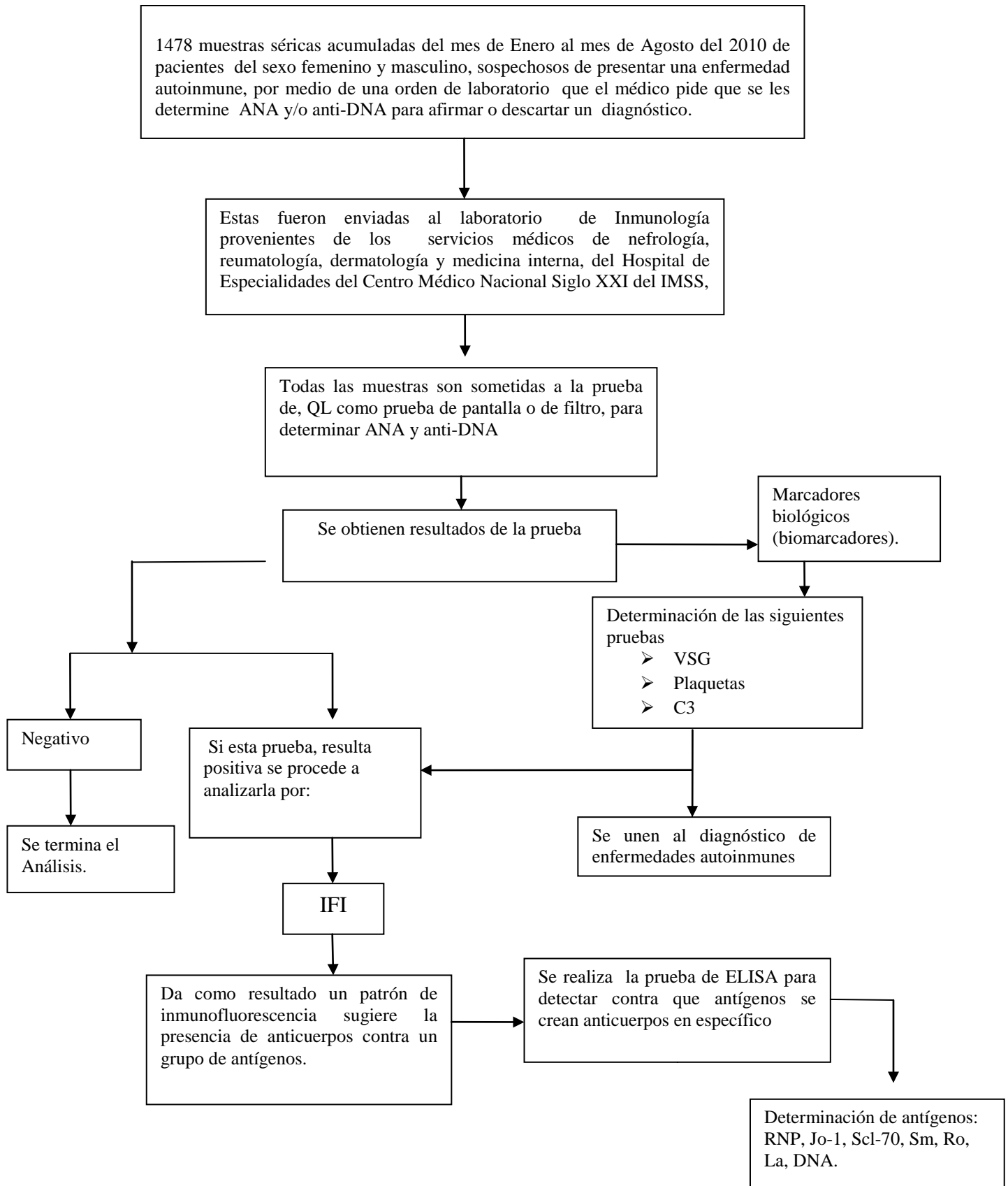
Estas muestras fueron obtenidas del mes de Enero al mes de Agosto del 2010, en del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, del laboratorio Clínico de Inmunología, estas muestras son tomadas de aquellos pacientes que provienen de los servicios médicos de nefrología, reumatología, dermatología y medicina interna, y que son sospechosos de presentar alguna enfermedad autoinmune, por lo que los médicos las envían a realizar las pruebas que le ayudaran a descartar o afirmar su diagnóstico,

El análisis de muestras se hace de acuerdo, a las pruebas que piden las ordenes médicas, pero así se mostrara, que los médicos obtan por método que se maneja en el laboratorio de Inmunología el cual es someter las muestras a las técnicas QL, IFI y ELISA, para la determinación de ANA y anti-DNA que son utilizadas en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes.

En ocasiones los médicos, no anotan el diagnóstico de la enfermedad en la que están pensando, pero otros si, y en otros casos algunos ya son pacientes diagnosticados, a quienes se les realizan las pruebas para darles seguimiento a la respuesta que tienen al tratamiento.

Si inicialmente las muestras séricas de los pacientes son sometidas a la prueba de quimioluminiscencia que se utiliza en este proyecto como prueba de tamiz, para la determinación de ANA y/o anti-DNA resultan positivas, entonces estas pasan a ser analizadas por la prueba de IFI que ha sido la prueba “gold estándar”, al mostrar un patrón de inmunofluorescencia en el que se muestran ANA serán sometidos a la prueba de ELISA para saber contra que antígenos en específico existen anticuerpos, y complementando los resultados obtenidos de estas pruebas , con la VSG, conteo de plaquetas y las proteínas del complemento C3 y C4.

METODOLOGIA GENERAL



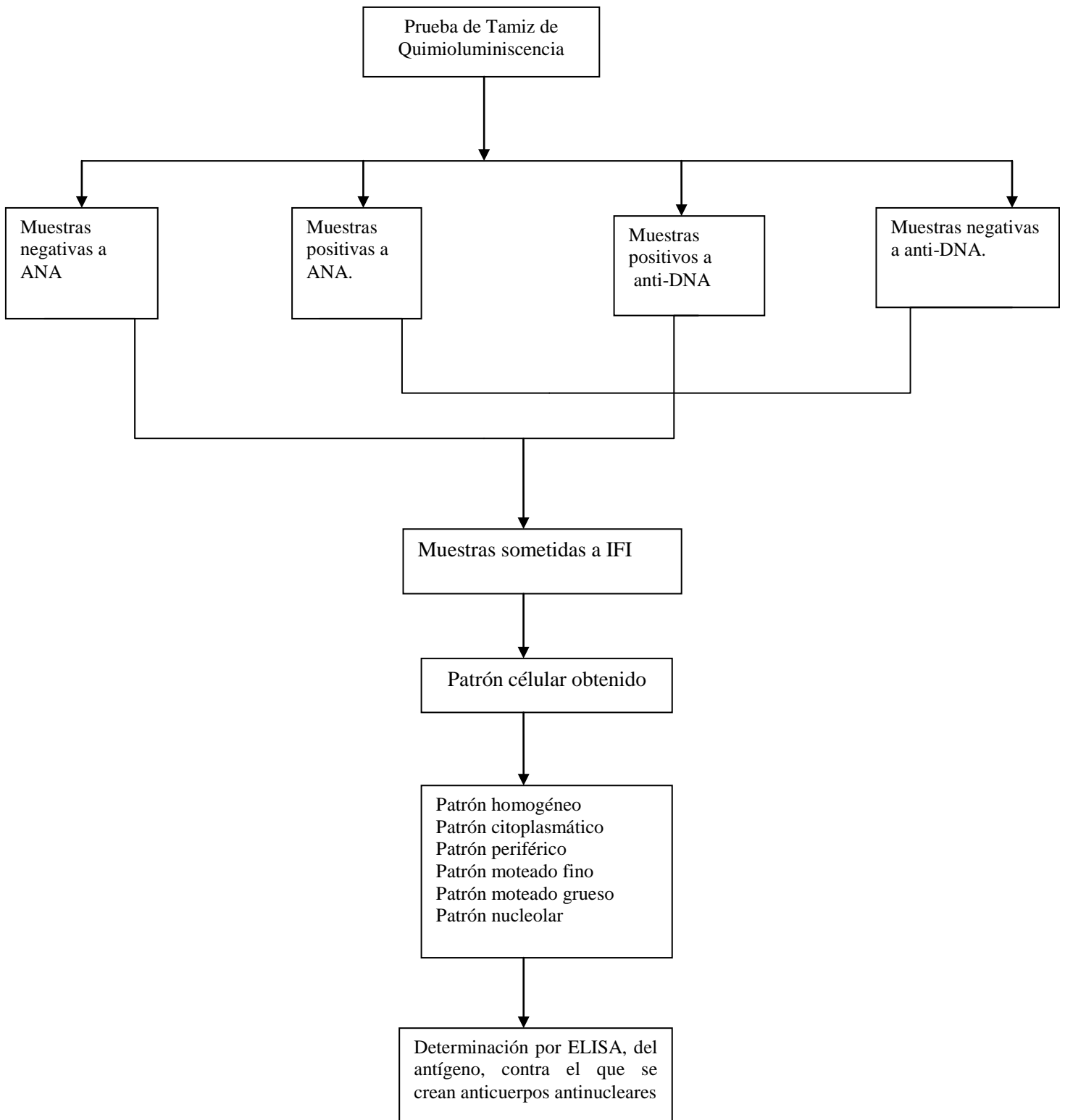


Figura 39. Resultados obtenidos de ANA y anti-DNA.

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DE QUIMIOLUMINISCENCIA.

Fundamento

El método de quimioluminiscencia para la determinación de ANA es un ensayo indirecto de tipo cualitativo. Antígenos elevadamente purificados y recombinantes (dsDNA, SSA (Ro), SSB (Lo), RNP/Sm, Scl-70, CENP y mitocondria) junto con extractos nucleares de células Hep-02 se emplean para recubrir las partículas magnéticas (fase sólida) y un anticuerpo monoclonal de ratón está enlazado a un derivado de isoluminol (conjugado de anticuerpo isoluminol).

Durante la primera incubación, los anticuerpos anti-nucleares presentes en los calibradores, en las muestras o en los controles enlazan la fase sólida. Durante la segunda incubación el anticuerpo conjugado reacciona con la IgG antinuclear enlazada a la fase sólida.

Después de cada incubación, se elimina el material no enlazado mediante un ciclo de lavado. A continuación, se añaden los reactivos Starter (iniciador) 1 que es el peróxido de hidrógeno y el Starter (iniciador) 2 que es un catalizador en hidróxido de sodio (NaOH) que inducen una reacción de quimioluminiscencia en las cubetas conteniendo la mezcla de reacción.

Esto dispara la reacción que resulta en la emisión de fotones de luz. La señal luminosa y por lo tanto la cantidad de conjugado anticuerpo e isoluminol, se mide con el fotomultiplicador en unidades relativas de luz (RLU) e indica la concentración de IgG antinuclear presente en los calibradores, en las muestras o en los controles.

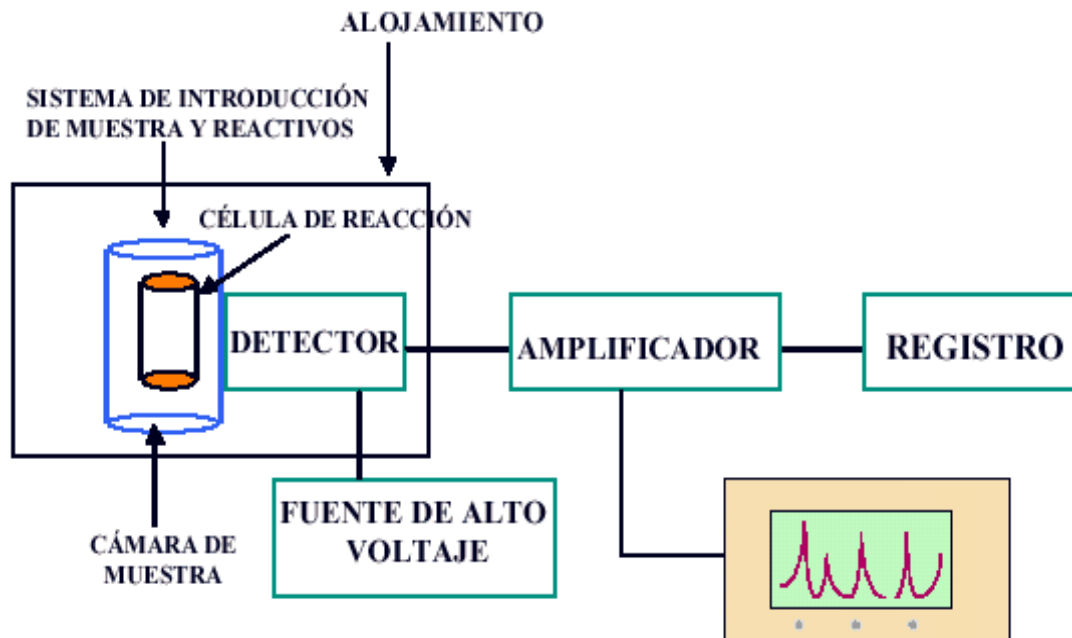


Figura 40: Diagrama del funcionamiento de un equipo de quimioluminiscencia.

<http://farmacia.ugr.es/ars/pdf/217.pdf>

OBTENCIÓN DE MUESTRAS SÉRICAS.

Recogida y preparación de las muestras.

Para la obtención de las muestras sanguíneas deben de seguirse los siguientes pasos.

1. Se utilizaron muestras suero o plasma humano. Los anticoagulantes que pueden ser usados son: el citrato, el EDTA y la heparina.
2. Para recoger la sangre mediante punción venosa, debe dejarse coagular y separar el suero del coágulo lo antes posible.
3. Clarificar por filtración o centrifugación antes del ensayo las muestras que presenten, material en suspensión, opalescencia, lipemia o residuos eritrocitarios, No usar muestras fuertemente hemolizadas o lipémicas, ni muestras que presenten material suspendido o evidente contaminación microbiana.
4. Eliminar las eventuales burbujas de aire que pueda haber antes del ensayo.
5. Si el ensayo se lleva dentro de los siete días sucesivos a la recogida, las muestras se pueden conservar a $-2-8^{\circ}\text{C}$ y se han sometidos a cinco ciclos de congelación y descongelación. Los resultados no han mostrado diferencias significativas. El volumen mínimo de muestra necesario es $170\ \mu\text{L}$.

EQUIPO.

1.-Equipo de quimioluminiscencia Liaison de Diasorin.

REACTIVOS

Todos los reactivos del Kit Liaison de Diasorin, para determinar los diferentes ANA por el método de QL. (Liaison-Diasorin)

- Calibradores.
- Controles: son suero/plasma humano que contienen niveles bajos de IgG anti-DNA ó ANA respectivamente, albúmina sérica bovina, tampón de fosfatos, conservantes y un colorante amarillo inactivo.
- Muestras problemas.
- Partículas magnéticas recubiertas de ENA (DNAds, Sm, Jo-1, Scl-70, SSA, SSB, etc).
- Diluyente de muestras.
- Conjugado.
- Starter 1: Peróxido de Hidrógeno.
- Starter 2: Catalizador en NaOH.

PROCEDIMIENTO DE LA TÉCNICA DE QUIMIOLUMINISCENCIA PARA LA DETERMINACIÓN DE ANA O ANTI-dsDNA.

1.-Preparación del Kit de Reactivos.

Colocar el integral de los reactivos en el área de los reactivos del instrumento con la etiqueta de los códigos de barras situadas a la izquierda y déjelo agitar durante 30 minutos antes del uso. Durante este tiempo las partículas magnéticas serán mantenidas en agitación automáticamente para garantizar una resuspensión completa. (Liaison-Diasorin)

2.-Control de Calidad.

Se aconseja realizar el control de calidad por lo menos una vez por cada día de trabajo, cuando se usa un nuevo Kit de reactivos ó cuando se calibra el instrumento.

Los valores de los controles tienen que estar comprendidos entre los rangos esperados. Si los valores experimentales de los controles están de nuevo fuera de los rangos predefinidos después de la calibración, habrá de repetir el test usando un frasco de control no abierto.

Los controles LIAISON para quimioluminiscencia para ANA y anti-DNA respectivamente son indispensables para el control de calidad que se realiza dentro de los laboratorios de análisis y se deben analizar individualmente. Los controles son suero/plasma humano que contienen niveles bajos de IgG anti-DNA ó ANA respectivamente, albúmina sérica bovina, tampón de fosfatos, conservantes y un colorante amarillo inactivo. ^(Liaison-Diasorin)

3.-Calibración.

El ensayo de los calibradores contenidos en el Kit de reactivos permite ajustar la curva predefinida. El instrumento se debe de calibrar por triplicado cada vez que se verifique una de las siguientes condiciones.

- Se usa un nuevo lote de Kit de reactivos o un nuevo lote de reactivos Starter.
- La calibración anterior fue realizada más de dos semanas antes.
- El instrumento ha sufrido una intervención de asistencia técnica.
- Los valores de los controles están fuera de los rangos esperados.

A continuación se mostraran ejemplos de la curva de calibración a partir de los datos arrojados por los calibradores en un proceso de calibración, realizados durante la realización del trabajo, tanto en la prueba de ANA y anti-DNA. ^(Liaison-Diasorin)

Curva Patrón de anti-DNA.

Tabla 23. Lectura de los calibradores de QL, para anti-DNA

Unidad	Calibrador 1	Calibrador 2
RLU1	18570	137770
RLU2	19131	137294
RLU3	19381	140857
Media	19027	138640
CV	2.18	1.40
Desviación	-13.90	7.88

Concentración:	UI/mL	
Concentración esperada:	33.300	157.900
Concentración calculada:	33.265	157.914
Desviación (%):	-0.11	0.01

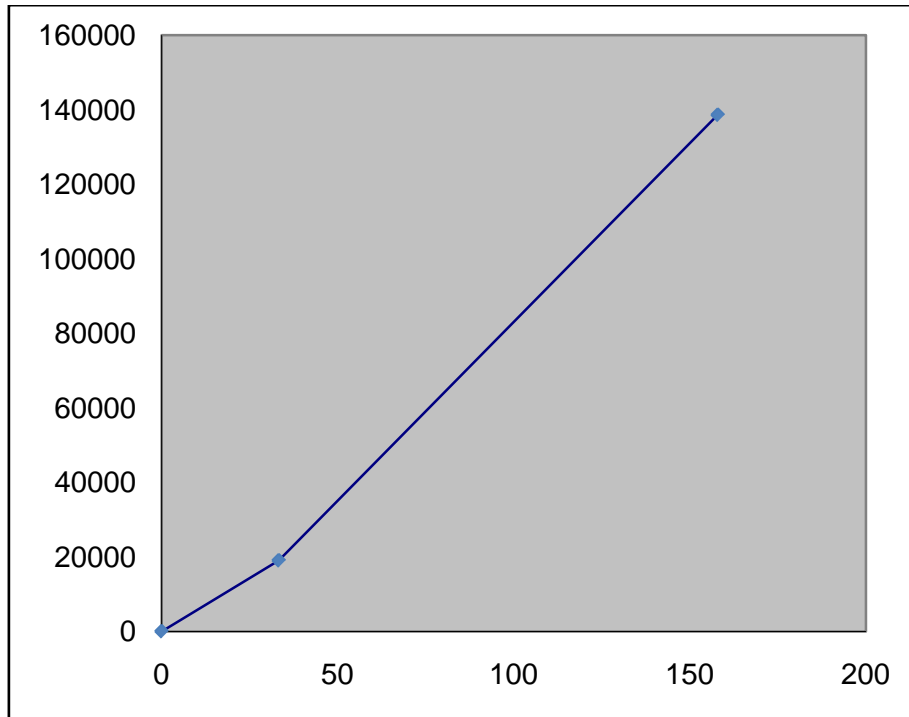


Figura 41 Curva de Calibración de anti-DNA en QL.

Curva Patrón ANA.

Tabla 24. Lectura de los calibradores de QL para ANA

	Calibrador 1	Calibrador 2
RLU1	12427	91847
RLU2	13554	93679
RLU3	13121	87629
Media	13034	91051
CV	4.36	3.41
Desviación (%)	-20.61	-2.50

Concentración:	Índex	
Concentración esperada:	0.990	6.700
Concentración calculada:	0.991	6.698

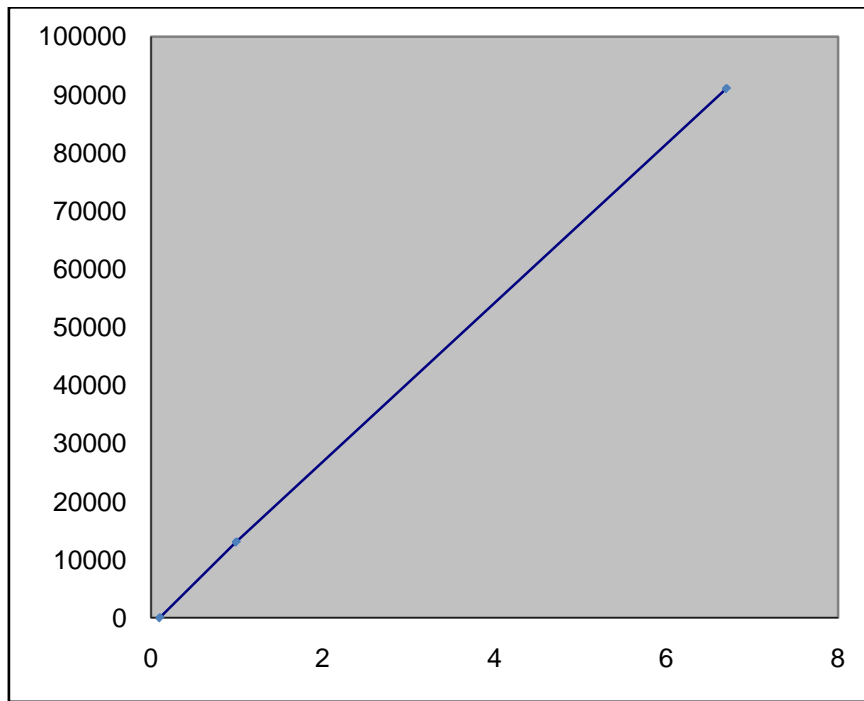


Figura 42. Curva de Calibración de ANA en QL.

4.-Procedimiento Operativo.

Las muestras de los pacientes fueron analizadas en un aparato de quimioluminiscencia de la Marca Liaison-Diasorin. Cada parámetro del test es identificado mediante el código de barras en la etiqueta del Kit de reactivos. En caso de que el lector del código de barras no funcione adecuadamente, se deberán introducir manualmente los datos convenientes.

El aparato realiza las siguientes operaciones, el tiempo preciso de cada paso no es certero pero el tiempo en que tarda depende del número de muestras analizadas^{®Liaison-Diasorin)}

- 1.-Distribuye calibradores, controles o muestras en el modulo de reacción.
- 2.-Distribuye las partículas magnéticas recubiertas.
- 3.-Distribuye el diluyente de muestras.
- 4.-Incuba.
- 5.-Lavar con el líquido de lavado.
- 6.-Distribuye el Conjugado en el módulo de reacción.
- 7.-Incuba.
- 8.-Lava con el Líquido de lavado.
- 9.-Añade los reactivos “Starter” 1 y 2, y mide la luz emitida.

El tiempo en que se encarga de analizar un promedio de 100 muestras es de aproximadamente 40 minutos.

5.-Lectura de Resultados.

El instrumento calcula automáticamente las concentraciones de IgG anti-DNA y de IgG ANA bicatenario expresadas en UI/MI y clasifica los resultados.

Intervalo de medición 0-240 UI/MI de IgG anti-DNA bicatenario. Las muestras que contengan concentraciones de anticuerpos superiores al intervalo de medición pueden ser pre-diluidas mediante la función dilute del instrumento y ser re-analizadas (el factor de dilución aconsejado es 1:10). Los resultados se multiplicarán automáticamente por el factor de dilución para obtener los niveles de anticuerpos de las muestras no diluidas. (Liaison-Diasorin)

Parámetros de los resultados de QL para la determinación de ANA.

El instrumento calcula automáticamente los niveles de IgG antinuclear (ANA) expresados en valor de índice y clasifica los resultados.

El instrumento calcula los niveles de IgG anti-nuclear expresados en valor de índice, es decir el aparato ya hace solo el cálculo para clasificar los como resultados positivos ó negativos.

El valor límite que discrimina entre la presencia y la ausencia de IgG antinuclear tiene un valor de índice 1.5. Los resultados de las muestras deben ser interpretados de la siguiente manera:

Las muestras con niveles de IgG antinuclear por debajo de un valor de índice 1.5, son clasificados como negativos.

Las muestras con niveles de IgG antinuclear iguales por encima de un valor de índice 1.5 son clasificados como positivos.

Parámetros de los resultados de QL para la determinación de anti-DNA.

Las muestras con concentraciones de IgG anti-DNA bicatenario por debajo de 20 UL/ml se deben clasificar negativas.

Las muestras con concentraciones de IgG anti-DNA bicatenario entre 20 y 25 UL/ml se deben clasificar dudosas. Se recomienda repetir el test de las muestras dudosas para confirmar el primer resultado.

Las muestras con concentraciones de IgG anti-DNA bicatenario iguales o por encima de 25UL/ml se deben clasificar positivas

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DE IFI.

El sistema de prueba está basado en la técnica de anticuerpos fluorescentes indirectos. Las muestras de suero de pacientes diluidas en tampón se adicionan a las células HEp-02 fijadas en un portaobjetos de microscopio. Si en el suero existen anticuerpos específicos, se forman complejos antígeno-anticuerpo estables. Estos complejos producen la unión de inmunoglobulina antihumana marcada con fluoresceína. La reacción positiva resultante es visible por la fluorescencia color verde manzana de los núcleos o citoplasma celulares, cuando se observan con un microscopio de fluorescencia.^(Euroimmun)

EQUIPO Y MATERIAL

- 1.-Tubos de ensayo (12 x 75 mm o similares) y gradilla.
- 2.-Pipetas Pasteur.
- 3.-Cámara húmeda. Las cajas de petri grandes de plástico (revestidas con toallas de papel húmedas).
- 4.-Matraz aforado para PBS (PBS del inglés Phosphate Buffer Solución).
- 5.-Agua purificada.
- 6.- Pinzas.
- 7.-Microscopio de fluorescencia correctamente equipado y alineado.
- 8.-Cubreobjetos, cristal lavado de antemano (24 x 60 mm).
- 9.- Frasco de lavado.
- 10.-Cronómetro.
- 11.-Microscopio.

REACTIVOS.

- 1.- Laminillas recubierta con HEp-02.
- 2.- Anti- globulina humana IgG unida al FITC.
- 3.-Control Positivo: anticuerpos contra ANA y anti-DNA.
- 4.-Control Negativo a ANA y anti-DNA.
- 5.-Solución de tampón de fosfatos.
- 6.-Tween 20.
- 7.- Manual de instrucciones de la técnica de IFI Euroimmun.
- 8.-Agua destilada.
- 9.-Microscopio de fluorescencia Axio Scope.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO.

1.- Dilución de la muestra de suero.

Diluir las muestras séricas a 1:65 en PBS (es decir por 1 μ L de muestra es 64 μ L de PBS).

2.-Preparación de los portaobjetos.

Extraer suficientes laminillas de HEp-02 de su lugar de almacenamiento y dejar a temperatura ambiente (unos 15-30 minutos). Extraer los portaobjetos de su envoltorio y etiquetar.

3.-Aplicación de la muestra.

Aplicar 25 μL de la muestra diluida en un pocillo de los portaobjetos. Aplicar una gota de suero control positivo y 1 gota de suero control negativo a los pocillos correspondientes en al menos un portaobjetos de cada serie de pruebas.

4.-Incubación.

Incubar los portaobjetos en una cámara húmeda tapada a temperatura ambiente durante 30 minutos.

5.-Enjuague.

Extraer los portaobjetos de la cámara húmeda y enjuagar suavemente con PBS en un frasco de lavado. No inyectar tampón directamente en los pocillos. Debe dirigir el flujo de PBS desde la línea media horizontal del portaobjetos hacia el borde opuesto a la fila superior de pocillos. Colocar los portaobjetos en un frasco de lavado con PBS durante 10 minutos. Agitar los portaobjetos suavemente al principio, a la mitad del procedimiento y antes de su extracción.

6.-Drenaje.

Extraer uno a uno los portaobjetos del tapón de lavado. Escurrir y secar el exceso de PBS que quede alrededor de los pocillos con las tiras de papel secante. No aplicar el papel directamente a los pocillos. Vuelva a introducir los portaobjetos en la cámara húmeda.

7.-Aplicación del conjugado.

Colocar 1 gota (aproximadamente 20-30 μL) de conjugado para tapar cada pocillo, que es la fluoresceína ligada a una globulina anti-globulina humana.

8.-Incubación.

Incubar los portaobjetos en una cámara húmeda tapada a temperatura ambiente durante 30 minutos. Proteger de la luz excesiva y enjuagar siguiendo el paso No.5

10.-Lavado.

Si es necesaria una tinción de contraste, agregar 5 gotas de azul de Evans por cada 75 ml de PBS en el recipiente de lavado. Agitar para mezclar la solución. Colocar los portaobjetos en la solución de azul de Evans/PBS durante 10 minutos. Agitar los portaobjetos suavemente al principio, a la mitad del procedimiento y antes de su extracción, dejar escurrir el exceso de PBS.

11.-Lectura.

Aplicar 1 gota pequeña de medio de montaje en cada pocillo de muestra. Aplicar suavemente el cubreobjetos sin apretar. Examinar los portaobjetos tan pronto como sea posible con un microscopio de fluorescencia.

DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DE ELISA.

- Los pozos de las bandas de microtitulación se recubren con el antígeno purificado. Durante la primera incubación, los autoanticuerpos específicos en plasma o suero diluido se fijan a la superficie recubierta con antígeno.
- Posteriormente se lavan los pozos para eliminar los componentes no fijados.
- En la segunda incubación, el conjugado, un anticuerpo monoclonal que reconoce a una IgG humana, se fija a cualquier autoanticuerpo fijado a la superficie.
- Después de otro lavado, se determinan los autoanticuerpos específicos mediante la incubación con el sustrato. La adición de la solución de paro finaliza la reacción, produciendo un producto colorado al final. La cantidad de conjugado se mide en unidades de absorbancia. ^{Biorad 2008}

MATERIAL Y REACTIVOS.

Material

- 1.-Lector de placa con filtro de 550 nm (es aceptable 540-565 nm).
- 2.-Micropipetas de precisión para proveer 10µL, 100µL, 1mL, para dispensar 100µL. Pipeta automática para dispensar 200µL para el lavado manual; lavador automático de placa opcional.
- 3.- Tubos de ensaye.
- 4.- Agua destilada / desionizada.
- 5.- Toallas de papel.
- 6.- Cronómetro.

Reactivos

- 1.-Soporte para bandas y pozos recubiertos con el antígeno.
- 2.-Diluyente de muestra: PBS, albúmina sérica bovina (BSA) al 1% y 0.5% azida sódica.
- 3.-Tampón de Lavado Concentrado: tampón boratado, Tritón X-100 y 0.8% azida sódica.
- 4.-Control de Referencia: Plasma humano en tampón con <0.1% azida sódica, listo para su uso no necesita diluirse.
- 5.-Control Negativo: Suero humano <0.1% azida sódica, diluido a 1:100 con diluyente de muestras.
- 6.-Control Positivo: Suero humano con 0.1% azida sódica, diluido 1:100 con diluyente de muestras, de la misma forma en que se diluyen las muestras.
- 7.- Conjugado. Anticuerpo monoclonal murino marcado con fosfatasa alcalina a IgG humana con tampón Tris con albúmina sérica bovina y <0.1% azida sódica, listo para su uso.
- 8.-Sustrato. Ión magnesio como cofactor enzimático, monofosfato de fenoltaleína (PMP) y bronidox al ≤10% en solución amortiguadora. No exponer a la luz durante el almacenamiento. El sustrato debe tener un color amarillo pálido. El color rosa indica contaminación y hay que desechar el reactivo.
- 9.-Solución de Paro. Tampón con ≤5% de hidróxido de sodio 0.4N, EDTA y carbonato de sodio pH<10.Listo para su uso.
- 10.-Calibrador 0: BSA tampón con 0.1% azida sódica.
- 11.-Calibrador. Suero humano en tampón con <0.1% azida sódica que contiene 2, 83 y 100 U/mL. (Biorad, 2008)

PROCEDIMIENTO DE ELISA.

- 1.-Pipetear 100µL de calibradores/control de referencia por duplicado, controles negativos y positivos prediluidos (1:100), en los vasos apropiados. No olvidar cambiar las puntas de las pipetas entre añadidos y no debe durar más de 15 minutos para ningún conjunto de calibradores/controles/muestras.
- 2.-Incubar 60±10 minutos a 15-25°C.
- 3.-Decantar el contenido de la banda mediante inversión rápida sobre un lavabo adecuado para la eliminación de materiales biológicos, teniendo presente el posible potencial infeccioso de las muestras. Sacar las placas de las bandas invertidas con toallitas de papel.
- 4.-Lavar las placas tres veces con un mínimo de 200 µL de solución de lavado diluido. Decantar y secar después de cada fase de lado.
- 5.-Añadir 100 µL de conjugado a cada pocillo.
- 6.-Incubar 30±5 minutos de 18 a 25 °C. No decantar.
- 7.-Repetir los pasos 3 y 4.
- 8.-Añadir 100 µL de solución de paro a cada pocillo, en el mismo orden y ritmo que el tampón sustrato. Agitar los pocillos con suavidad para mezclar.
- 9.-Incubar 30±5 minutos a 18-25°C. No decantar.
- 10.-Añadir 100 µL de tampón sustrato a cada pocillo., en el mismo orden y ritmo que el tampón sustrato. Agitar la placa de pocillos con suavidad para mezclar.
- 11.-Leer las bandas. ^{(Biorad, 2008).}

CÁLCULO Y COMO INTERPRETAR LOS RESULTADOS.

Calcular el valor de la tasa de absorbancia (densidad óptica) para los controles positivos y negativos, así como para cada muestra.

$$\text{Tasa de absorbancia} = \frac{\text{muestra o valor de absorbancia del control}}{\text{valor de absorbancia del control de referencia promedio}}$$

Los usuarios deben calcular un límite entre las muestras positivas y negativas que sea específico para sus poblaciones de pacientes utilizados en la prueba.

Tasa de absorbancia	Interpretación del resultado
<0.95	negativo
≥0.95 a ≤1.0	se recomienda repetir la prueba
>1.0	positivo

DETERMINACIÓN DE VSG.

Fundamento

La VSG es la medida de la cantidad de glóbulos rojos que se precipitan en un tubo en un tiempo definido (1-2 horas).

La sangre con anticoagulante (la más común es citrato sódico al 3,8 %) produciéndose la separación de los hematíes de la concentración plasmática, de modo que sedimentan en el fondo del tubo. Se basa en las concentraciones de proteínas séricas y las interacciones de los glóbulos rojos con estas proteínas.

El principio físico de esta prueba se basa en la Ley de Stokes considerando los hematíes como esferas suspendidas en un medio infinito. Los más importantes son las proteínas plasmáticas, especialmente el fibrinógeno y las globulinas. La albúmina posee un escaso efecto sobre la VSG. Se cree que estas proteínas disminuyen la carga electrostática de la membrana de los hematíes, disminuyendo la repulsión entre ellos y favoreciendo su agregación.

Material.

- 1-Tubos Wintrobe
- 2.-Pipeta Pasteur
- 3- Sangre con anticoagulante

Procedimiento.

- 1.-Llenar el tubo de Wintrobe con la aguja de Pasteur.
- 2.-Colocar en un gradilla que quede completamente recto.
- 3.-Observar a la hora que tanto han descendido los glóbulos rojos.
- 4.-Medir en esa distancia en la escala del tubo de Wintrobe cuya marca superior sea cero.

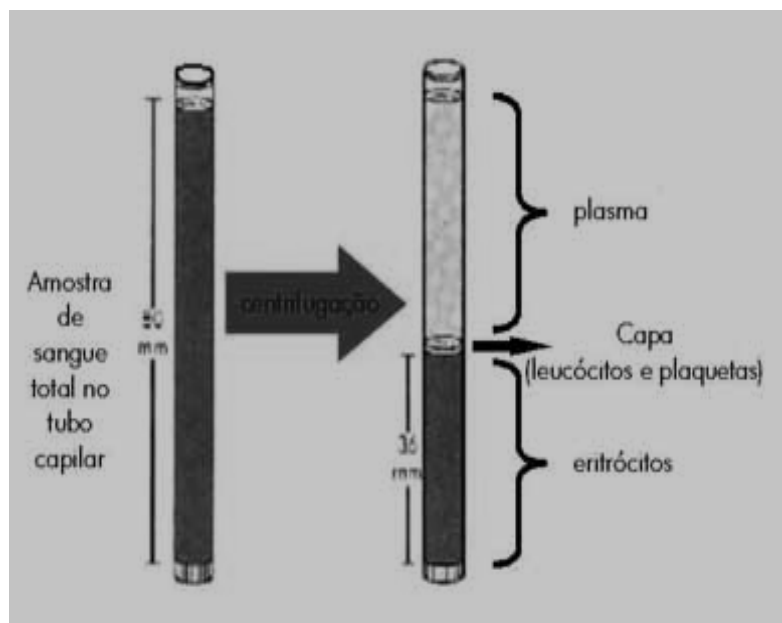


Figura 43. Velocidad de Sedimentación Globular

RECUESTO PLAQUETARIO.

Principios generales del equipamiento.

Los analizadores hemáticos en general utilizan.

El principio de la impedancia en el recuento de células se basa en la detección y la medición de cambios en la resistencia eléctrica producida por las células cuando atraviesan una apertura pequeña, de un tubo de vidrio. Las cuales están suspendidas en un diluyente conductor de la electricidad, como solución fisiológica. A medida que las células atraviesan la apertura, que tiene sensores y produce pulsos de voltaje medibles. En algunos instrumentos, las pantallas del osciloscopio muestran los pulsos que generan las células cuando éstas interrumpen la corriente.

El número de pulsos es proporcional al número de células contadas. El tamaño del pulso de voltaje es directamente proporcional al tamaño (volumen) de la célula, lo que permite la discriminación y el conteo de células de tamaño específico mediante el uso de circuitos umbral. Los pulsos se reúnen y ordenan (canalizan) según su amplitud mediante analizadores de la altura de los pulsos.

Equipos.

Contador Hematológico Coulter Act 8

Analiza 60 muestras por hora

12 μ L de muestra

Analiza 16 muestras

Material.

- Gradilla con agitación automática
- Tubo de ensayo 13 x 100 ml

Reactivos.

- Sangre venosa con EDTA al 10%
- EDTA al 10 %

Procedimiento.

- 1.- Tomar un tubo de ensayo que contiene la sangre con el anticoagulante, el cual se está agitando.
- 2.- Inmediatamente, se introduce bajo la aguja de succión de aparato y se presiona el botón "start"
- 3.- Se retira el tubo, hasta que termina de succionar la muestra, e inmediatamente, se arrojan los resultados en la pantalla del aparato.

Valores Normales.

150 mil- 450 mil /mm³

DETERMINACIÓN DE C3 Y C4.

Fundamento.

Consiste en el análisis automatizado de la dispersión de la luz al chocar contra complejos antígeno-anticuerpo formados al incubar suero del paciente con el reactivo. A mayor concentración de complejos (mayor “turbidez” de la suspensión), mayor la dispersión.

Los componentes individuales, tales como C3, C4, se miden por medio de nefelometría y ELISA. Los niveles séricos de los componentes del complemento pueden servir como marcadores de actividad de la enfermedad. En los pacientes con enfermedad inmune deposición del complejo, el suero las proteínas del complemento se consumen. Y los niveles séricos disminuyen.

Si los niveles de C4 son bajos en comparación con los niveles de C3, esto puede indicar la presencia de crioglobulinas o genotipo del alelo nulo C4.

Material.

- 1.-Pipeta automática de 1-20 μ L
- 2.-Reglilla
- 3.-Placas de inmunodifusión radial que contengan inmunoglobulinas anti-C3 y/o C4

Reactivos.

- 1.-Suero
- 2.-Suero control de referencia

Procedimiento.

Antes de comenzar la técnica, es importante destapar la caja por que se evapore el agua de condensación

- 1.-Depositar 5 μ L del suero problema, calibradores y control.
- 2.-Cerra la caja e incubar a temperatura ambiente por 48 horas
- 3.-Medir los diámetros de difusión e interpolar en la curva de calibración

Valores de referencia.

C3	53-139 mg/ Dl
C4	15-60 mg/Dl

RESULTADOS.

QUIMIOLUMINISCENCIA COMO PRUEBA DE TAMIZ

Figura. 44. Resultados de las 1478 muestras analizadas por quimioluminiscencia.

Las 1478 muestras séricas que se obtuvieron fueron analizadas inicialmente por la prueba de tamiz de quimioluminiscencia y se obtuvieron los siguientes resultados:

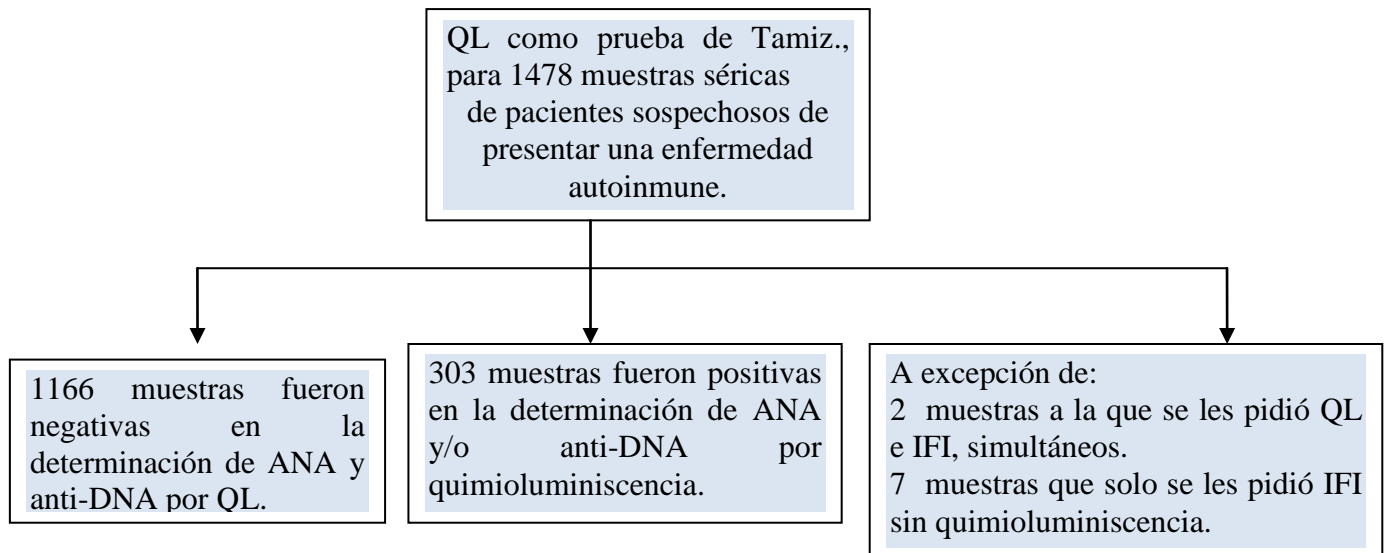


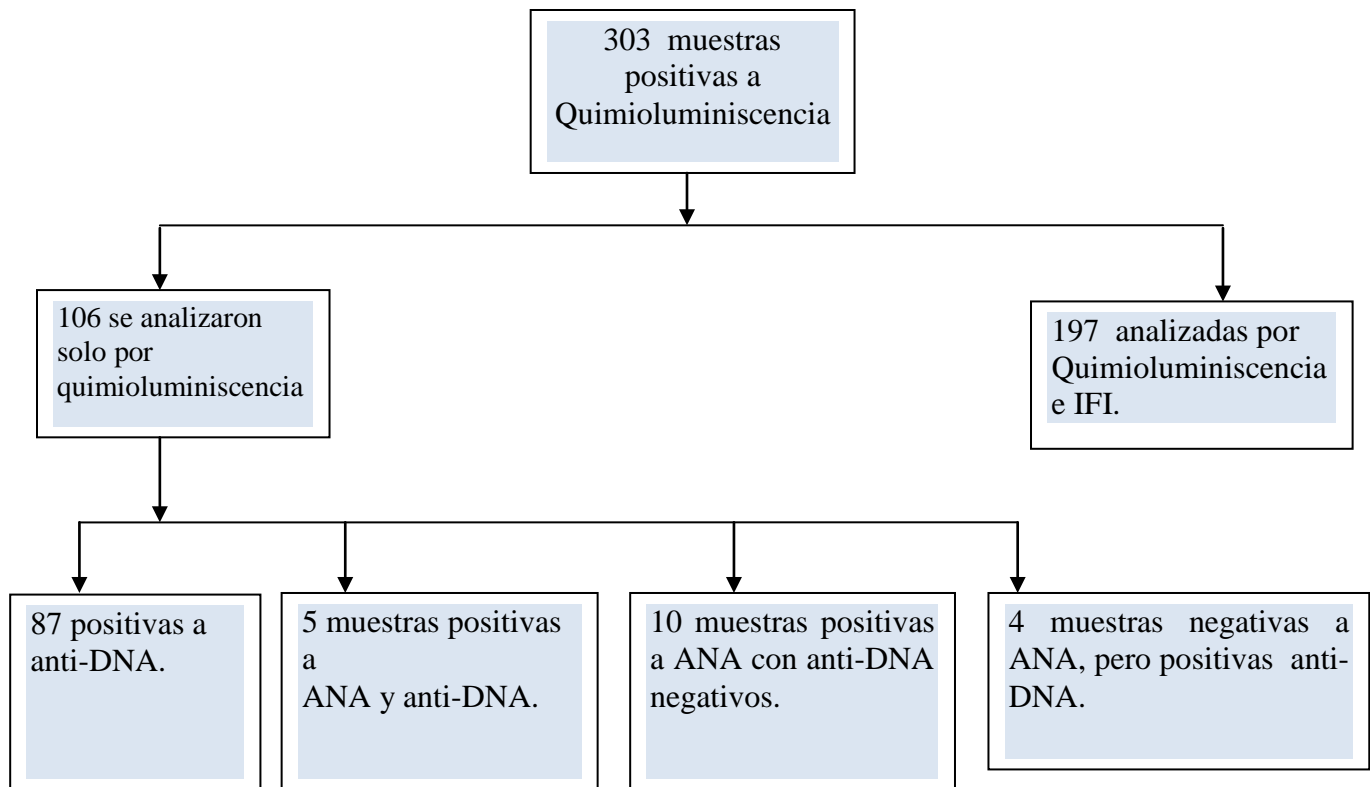
Tabla 25. Enfermedades que presentan los pacientes analizado. De las 303 muestras que resultaron positivas, solo 166 pacientes presentan un diagnóstico no se tiene el dato si son pacientes ya con un diagnóstico confirmado o si solo en algunos son presuntivos.

No. de pacientes	Presunta enfermedad que presentan
50	LES
17	IRC
15	Artritis Reumatoide
11	Púrpura Trombocitopénica Idiopática
5	Nefropatía
2	Cirrosis Biliar Primaria
1	EMTC
2	Miopatía

Tabla 26. Muestras positivas a IFI. Las 303 muestras que dieron positivas siguiendo la metodología establecida en este proyecto se distribuyen de la siguiente manera:

<i>Distribución de los resultados</i>	<i>No fueron sometidas a IFI.</i>	<i>Prueba de IFI Positiva</i>	<i>Prueba de IFI Negativa</i>	<i>Total</i>
Muestras positivas para determinación de ANA y/o anticuerpos anti-DNA por QL.	106 representan el 34%	176 representan el 56%	21 representan el 7%	303

Figura. 45. Resultados de quimioluminiscencia e IFI.



De las muestras sometidas a quimioluminiscencia como prueba de tamiz, 303 resultaron positivas, de las cuales 106 solo se quedaron hasta la prueba de quimioluminiscencia, y 197 fueron analizadas por IFI.

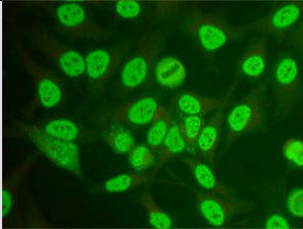
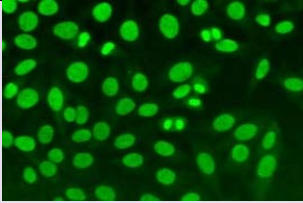
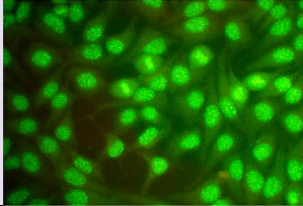
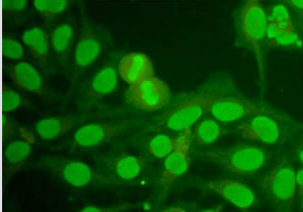
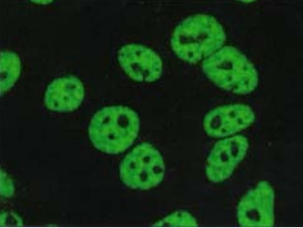
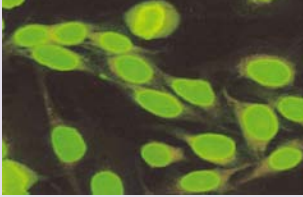
Tabla 27. Comparación de los resultados obtenidos por quimioluminiscencia e IFI. La distribución de los patrones de IFI obtenidos. Comparación de los resultados de las 197 muestras analizadas por quimioluminiscencia e IFI.

No. de muestras positivas Por QL.	<i>Distribución de los resultados positivo por quimioluminiscencia.</i>	IFI es la prueba “gold estándar”	
		<i>Prueba de IFI positiva</i>	<i>Prueba de IFI Negativa</i>
61	Muestras a las que se les determino solo ANA por QL y fueron positivas.	54	7
22	Muestras positivas a anti-DNA por QL.	22	0
66	Muestras positivas de ANA y anti-DNA positivas por QL.	60	6
48	Muestras positivas a ANA y negativas a anti-DNA por QL.	39	9
Total=197	Total	175	22

En la figura 44, se especifica que de las 303 muestras positivas que fueron positivas por quimioluminiscencia, a 106 muestras no se les realizó IFI, por lo tanto solo 197 fueron analizadas por quimioluminiscencia e IFI, resultando 175 muestras positivas tanto a QL como a IFI y representan el 89.43% de las muestras y 22 fueron negativas a IFI representando el 10.65% de las muestras que resultaron como positivas a las pruebas de quimioluminiscencia como prueba de tamiz.

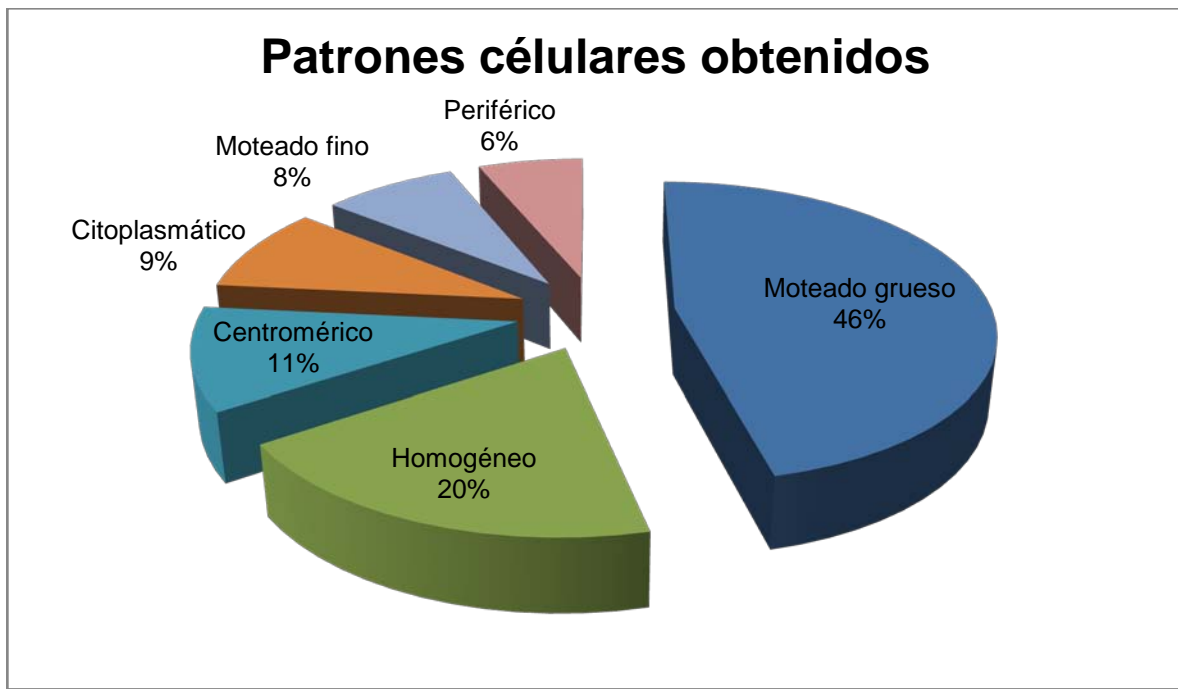
PATRONES DE IFI OBTENIDOS

Tabla 28. Distribución de los patrones de IFI obtenidos.

Patrón	Frecuencia	Porcentaje	Imagen del patrón celular de fluorescencia.
Moteado Fino	81	46	
Homogéneo	34	20	
Centromérico	19	11	
Citoplasmático	16	9	
Moteado grueso	14	8	
Periférico	11	6	
Total	175	100	

A continuación se muestra la gráfica, en el cual se expresan la frecuencia de los patrones más comunes en la prueba de IFI, para diagnosticar enfermedades autoinmunes.

Figura 46. Proporción de los patrones celulares obtenidos en IFI



RESULTADOS DE ELISA.

Tabla. 29. Correlación de los patrón celular obtenidos en IFI con ELISA. De acuerdo a los patrones obtenidos y de acuerdo a los anticuerpos que son característicos de cada patrón, a estas 176 muestras positivas a QL e IFI se les analiza por ELISA, para determinar los anticuerpos que son responsables de estos patrones celulares, obteniéndose los siguientes resultados.

Patrón obtenido	Número de casos	Antígeno determinado por ELISA	No de casos obtenido,
Moteado grueso	81	Anti SS-B	60
		Anti SS-A y Anti SS-B	21
Homogéneo	34	Anti-DNA	31
		Anti-Histonas	3
Centromérico	19	Anti-centrómero	19
Citoplasmático	16	Anti-mitocondriales	16
Moteado fino	14	Anti Sm	14
Periférico	11	Anti-DNA	9
		Anti-Histonas	3

Tabla 30. Correlación de las enfermedades de los pacientes con los resultados determinados por QL, IFI y ELISA

No. de paciente	Presunta enfermedad que presentan	Positivos a QL		No se les realizó IFI	Positivos en IFI	Negativos en IFI		Patrón celular obtenidos en IFI	Anticuerpos positivos en ELISA
50	LES	ANA sin realizarse anti-DNA	9	0	8	1	3	Homogéneo	Anti-DNA
							5	Moteado grueso	Anti SSA y anti-SSB
		anti-DNA	23	17	6	—	6	Homogéneo	Anti-DNA
		ANA y anti-DNA	7	—	7	—	7	Homogéneo	Anti-DNA
		ANA pos y anti DNA negativo	11	3	8	—	3	Moteado fino	Anti-Sm
						5	Periférico	Anti-Histonas	
17	Insuficiencia Renal Crónica	anti-DNA	9	6	3	1	3	Homogéneo	Anti-DNA
		ANA	8	—	7	1	5	Moteado Fino	Anti-Sm
							2	Centromérico	Anti-centrómero
15	Artritis Reumatoide	anti-DNA	8	5	3	—	3	Homogéneo	anti-DNA
		ANA	4	—	3	1	3	Moteado fino	Anti-RNP
		ANA y anti -DNA	3	—	3	—	3	Moteado fino	Anti-Sm
11	Purpura Trombocitopénica Autoinmune	anti-DNA	8	6	2	—	2	Homogéneo	Anti-DNA
5	Nefropatía	DNA	2	1	1	—	1	Moteado grueso	Anti-Sm
2	Cirrosis Biliar Primaria	ANA	2	—	2	—	2	Patrón citoplasmático	Anti-mitocondrias
1	EMTC	anti-DNA	1	—	1	—	1	Patrón Moteado grueso	Anti-Sm. Anti-RNP
2	Miopatía	ANA y negativa a anti-DNA	2		2		2	No hay anticuerpos	Anti-citoplasmático/moteado

RESULTADOS DE GENERO MÁS AFECTADO.

Tabla.31. El sexo femenino resulta ser el más afectado por las enfermedades autoinmunes, ya que el sexo femenino resulta ser con mayor frecuencia el más afectado por enfermedades autoinmunes, en este estudio se obtuvieron los siguientes resultados.

Género	No de pacientes	% con respecto al total de pacientes
mujeres	251	80.45
hombres	61	19.55
Total	312	100%

RESULTADOS DE LOS BIOMARCADORES VSG, PLAQUETAS, C3 Y C4.

Tabla 32. En la siguiente tabla se muestran los resultados medidos de los biomarcadores, plaquetas, VSG, C3 y C4 para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, ya que estos biomarcadores son seriamente afectados en un cuadro de enfermedad autoinmune, en sus valores normales de la siguiente manera.

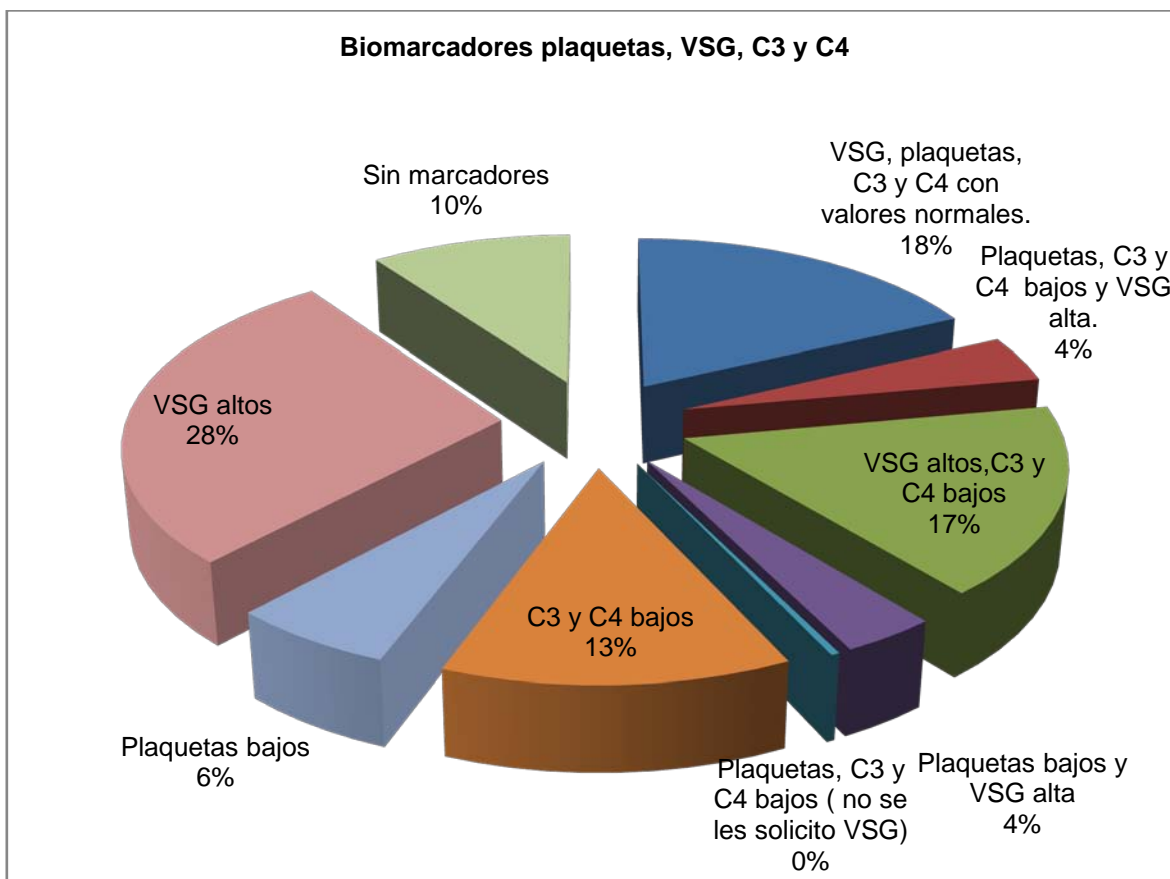
Biomarcadores	Valores Normales	Valores en sospecha de EAI
VSG	Hombre: 0 a 10mm/Hr Mujeres: 0 a 15 mm/Hr	Valores mayores a valores normales
Plaquetas	130-400x10 ³ /mm ³	Valores menores a valores normales.
C3	Hombres: 88 a 252 mg/dL Mujeres: 88 a 206 mg/dL	Valores menores a los valores normales.
C4	Hombres: 12 a 72 mg/dL Mujeres: 13 a 75 mg/dL	Valores menores a los valores normales.

A las 312 muestras que fueron positivas a la determinación de ANA y/o anti-DNA, se les determinaron los biomarcadores VSG, plaquetas, C3 y C4, y los resultados son los siguientes:

Tabla 33: Comportamiento de los biomarcadores en muestras positivas a anti-DNA y ANA.

Diferentes, cuadros de biomarcadores que se presentan en las diferentes muestras.	No. de muestras	Representación en %
VSG, plaquetas, C3 y C4 con valores normales.	56	18
Plaquetas, C3 y C4 bajos y VSG alta.	13	4
VSG altos, C3 y C4 bajos	53	17
Plaquetas bajos y VSG alta	11	4
Plaquetas, C3 y C4 bajos (no se les solicito VSG)	1	0.34
C3 y C4 bajos	40	13
Plaquetas bajos	19	6
VSG altos	88	28
Sin marcadores	31	10
Total	312 muestras	100%

Figura 47: Comportamiento de los biomarcadores en muestras positivas a ANA y anti-DNA.



DISCUSIÓN.

Los anticuerpos anti-DNA, y los ANA son de suma importancia para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes. Los antígenos contra los que actúan los ANA son antígenos que representan los componentes celulares, como el ácido nucleico, las histonas, la cromatina, y las proteínas ribonucleares, estos antígenos son involucrados en la transcripción o traducción en el ciclo celular o bien como proteínas estructurales.

La determinación de ANA es una parte importante en la integración de un diagnóstico de enfermedades del tejido conectivo; el método de tamizaje utilizado debe ser confiable para poder clasificar adecuadamente a los pacientes sanos y enfermos, y limitar el análisis, de las muestras negativas, a otras pruebas.

El método estándar o la prueba de oro, para la determinación de ANA por mucho tiempo ha sido IFI. La inmunofluorescencia es particularmente útil como una prueba de detección inicial para las personas sospechosas de tener una enfermedad autoinmune, como el LES, Síndrome de Sjögren, Artritis Reumatoide, EMTC, Escleroderma y en enfermedades no reumática, como la tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, la hepatitis autoinmune, hipertensión pulmonar primaria, varias infecciones y enfermedades malignas, además, la presencia de ANA con títulos bajos es más frecuente en poblaciones de edad avanzada.

Entre las ventajas que ofrece IFI es detectar un patrón de fluorescencia celular, (homogéneo, moteado, periférica, citoplasmático, etc) sugieren las asociaciones clínicas con ciertas enfermedades autoinmunes, es decir nos lleva a cerrar el perfil de búsqueda de los anticuerpos. IFI, determina solo el patrón celular, pero no nos indica contra que antígenos en particular existen anticuerpos, ya que un solo tipo de patrón puede deberse a diferentes tipos de anticuerpos a excepción de que el patrón sea específico de anticuerpos anti-DNA, que se reflejan en el patrón homogéneo, periférico o en *Crithidia luciliae*.

IFI ha sido la prueba de oro por mucho tiempo, para la determinación de ANA y anti-DNA, pero este concepto a cambiado debido a que IFI es una técnica que tiene varias desventajas entre las cuales están las siguientes: operador-dependiente, por lo que la confiabilidad de los resultados está directamente relacionada con la experiencia del observador, éste y otros factores como la menor sensibilidad pueden llevar a la falta de reproducibilidad, por lo que se convierte en subjetiva, y si se tienen que procesar varias muestras se convierte en compleja, poco práctica para analizar múltiples muestras en corto tiempo. IFI, es una técnica que no puede dejarse de emplear, pero tampoco se debe de depender y confiar totalmente, sino que debe de ser empleada junto con otras técnicas por lo que IFI, no puede seguirse utilizando como técnica de tamiz única, o si es utilizada como prueba de tamiz, debe de ser corroborada por una segunda prueba.

La ciencia se dio a la tarea de innovar nuevas técnicas, con base a las necesidades de superar las desventajas más importantes que ofrece IFI, entre las características que presentan estas técnicas son disminuir el trabajo, multianalíticas, rápidas, sensible, seguras, y automatización (eliminar o disminuir la manipulación directa del operador y experiencia del observado).

Las técnicas que poseen estas características pueden servir como métodos de tamizaje, antes de IFI, lo que disminuirá costos, tiempo de análisis, subjetividad en el procedimiento y una mayor sensibilidad y especificidad.

Entre una de las técnicas que cumplen estas características en su mayoría se encuentra la quimioluminiscencia, la cual es una técnica que cumple las características recién mencionadas y que ha sido apoyada por diferentes estudios reportados en diferentes artículos. La QL es una técnica automatizada de alta sensibilidad comparándola con IFI que es específica y no sensible como la quimioluminiscencia, pero solo funciona como técnica de tamiz, ya que las microesferas se encuentran impregnadas por una mezcla de antígenos nucleares, y de anti-DNA.

En 2007 P. Ghillani y colaboradores (2007) en París, Francia evaluó el inmunoensayo automatizado de quimioluminiscencia para la detección de anticuerpos antinucleares (ANA tamiz, DiaSorin). Este estudio se llevó a cabo simultáneamente analizando muestras por las técnicas de IFI y quimioluminiscencia, las muestras analizadas presentaban las siguientes características 327 muestras de pacientes con enfermedades clínicamente definidas, 273 muestras de rutina para la detección de ANA, y 300 donantes de sangre. Después de la resolución de las discrepancias entre los resultados, la concordancia obtenida para quimioluminiscencia fue especificidad de 94,9% y una sensibilidad de 98,8%, para IFI una especificidad del 99,3% y sensibilidad del 94%. Este ensayo automatizado permite proceso rápido de los resultados y muestra una sensibilidad satisfactoria para la detección de las principales especificidades ANA de enfermedades del tejido conectivo.

El 2009, María del Rocío Munive; et al evaluó la quimioluminiscencia y la comparo contra la inmunofluorescencia para ANA. Basados en el resultado del valor predictivo positivo para QL, propone el uso de esta metodología como prueba de tamizaje antes de llegar a IFI; usado de esta manera un resultado negativo puede ser reportado como tal, mientras que un resultado positivo siempre debe ser confirmado por IFI, esto ayudará a racionalizar los recursos y disminuir el número de muestras que son procesadas con IFI.

Yang JY y col. en 2010, en Korea, utilizó y comparo seis métodos para la determinación de anticuerpos anti-DNA, estos métodos y con sus respectivos antígenos, inmunofluorescencia con *Crithidia luciliae* (CLIFT), testículos de salmón (inmunoblot, IB), antígenos humanos (ELISA I), los testículos de salmón con el enlazador nucleosoma (ELISA II), plásmidos (ELISA III), y oligonucleótidos sintéticos (inmunoensayo de quimioluminiscencia, CLIA), en donde demostró que las especificidades de ELISA II, ELISA III, CLIA, y CLIFT fueron más altos que ELISA I y IB los otros cuatro ensayos se pueden utilizar para la detección de anticuerpos anti-DNA de doble cadena, con alta sensibilidad y especificidad, en pacientes con LES.

La técnica de quimioluminiscencia en este proyecto, fue utilizada como una técnica de tamiz, ya que por medio de ella se determinaron las muestras que presentan anticuerpos anti-DNA, ANA ó ambos, sin precisar contra que antígenos en específico se encuentran estos anticuerpos., por lo que es considera como prueba de tamiz, filtro o escrutinio, es decir, detectar las muestras positivas y negativas.

En este trabajo se considera como punto clave que, el resultado negativo inicialmente para ANA y/o anticuerpos anti-DNA bicatenario por quimioluminiscencia, indica generalmente que estos anticuerpos no están presentes en la circulación del paciente, o una enfermedad autoinmune en remisión ó autoanticuerpos nucleares no detectables, por tal motivo solo las muestras que dan positivas a quimioluminiscencia, son analizadas por IFI por medio de la cual, se determinan los patrones celulares que al mismo tiempo nos revelan contra que antígenos en específico se están creando los anticuerpos.

En la tabla 25 se expresa que las muestras que fueron positivas para QL y para IFI representan 90% y el 10% fueron positivas a quimioluminiscencia pero negativas para IFI. Estas muestras que fueron positivas en QL, resultaron negativas en IFI pero no se descartan como positivas pero lo más

recomendable es volver a realizarle QL, para demostrar su positividad, lo más recomendable es someterla a análisis nuevamente.

Tabla 34. La interpretación de los resultados de QL contra IFI que se reflejan en la tabla 25 se analiza de la siguiente manera.

Resultado Obtenido	Interpretación
ANA y/o anticuerpos anti-DNA positivo por QL y negativo a IFI.	<p>Las pruebas de ANA y DNA realizadas por quimioluminiscencia, son más fiables, ya que como se mencionó antes la prueba de IFI es más vulnerable a fallas por la manipulación humana y los niveles de anticuerpos no son los suficientes por lo que se recomienda una serie de diluciones menores a la propuesta, al resultar estas muestras positivas ANA y anti-DNA, se indica que estos pacientes presentan anticuerpos anti-DNA, con una gran seguridad, ya que en las microesferas en DNA, se encuentra también como antígeno.</p> <p>La prueba de quimioluminiscencia para ANA puede dar positiva, en la determinación del antígeno Ro ó anti SSA, debido a su sensibilidad, pero el antígeno Ro, por la técnica de IFI, en las células Hep-02, sus concentraciones son bajas, o se degrada si no son tratadas de una manera inadecuada, por lo que la prueba de IFI puede ser negativa.</p>
ANA positivo y DNA negativo por QL e IFI negativo.	<p>Son pocos los casos en los que se presentan, así que la forma de explicarlos, es iniciando con darle más valor a los resultados obtenidos por quimioluminiscencia y dar por hecho que los resultados obtenidos por IFI, no son confiables. La combinación de ANA positivo y anti-DNA indica que existen anticuerpos contra un antígeno que no es dsDNA, y la prueba de IFI negativa se explica en que si existen los anticuerpos, pero se necesitan menores diluciones para que se detecten o hubo algún error en la técnica.</p>
ANA positivos por QL e IFI	<p>Por las dos técnicas se determinó la presencia de ANA, por lo que se confirma la presencia de ANA, solo falta determinar contra que antígenos, los cuales se logrará con ELISA.</p>
Anticuerpos anti-DNA positivos por IFI y QL	<p>Por las dos técnicas se determinó la presencia de anticuerpos anti-DNA, y ambas dieron positivas, confirmándose así la presencia de anticuerpos anti-DNA.</p>

Las muestras que resultan negativas a IFI, se puede deber a varias causas entre las cuales:

- Antígenos en bajas condiciones, como el anti-Ro.
- que la técnica de IFI se halla efectuado mal.
- Mala observación del técnico.
- Mala manipulación de la muestra.
- Mal proceso de la técnica.

También en esta tabla se muestra las diferentes combinaciones de resultados obtenidos, de muestras que fueron positivas para anti-DNA y para ANA.

La quimioluminiscencia es utilizada para determinar las muestras positivas, pero no nos ayuda a determinar los anticuerpos en específico por lo que se recomienda confirmar los títulos y patrones, usando la inmunofluorescencia indirecta y ELISA.

El-Chennawi FA y col (2009) en Egypt. Realizó un estudio para evaluar la importancia de las técnicas de IFI y ELISA en el diagnóstico precoz de LES y para averiguar la correlación entre los ANA y el pronóstico de patrones celulares por IFI. La detección de ANA y anticuerpos anti-dsDNA se realizó mediante ELISA e IFI en una población de 75 pacientes con LES, 11 pertenecientes al grupo control positivo de la enfermedad, y 18 pacientes sanos. En este estudio se obtuvo que la técnica de IFI es más sensible para la detección de ANA y ds-DNA que la técnica de ELISA (100% frente a 90,7%, y el 93% frente al 89,3%, respectivamente); ELISA mostró 89,7% de especificidad para la detección de ANA en comparación con el 86,2% de IFI, y ambos tienen 100 % de especificidad para la detección de anticuerpos anti-dsDNA.

Copple SS y col (2011), en EUA, sometió a análisis a 30 pacientes con exámenes de rutina para LES, 94 con Artritis Reumatoide y 100 donantes sanos más 495 muestras de sueros sometidos a pruebas de rutina de ANA y 12 muestras de suero de referencia para la determinación de ANA por ELISA, e IFI La sensibilidad de ELISA varió de 90% a 97% en comparación con el 80% en IFI en las muestras de suero de pacientes con LES. Las pruebas ELISA habían especificidades del 36% al 94%, mientras que el IFI había 99% de especificidad, por lo tanto esto nos sugiere que IFI es una técnica específica y ELISA una técnica sensible, por lo que podemos deducir que pueden ser empleadas como complemento entre ellas, pero no obstante esto las muestras positivas por IFI para ANA debe ser probado en HEp-02 por IFI para determinar el título y el patrón y así determinar el antígeno en específico y poder llegar a la enfermedad.

Estos artículos son un ejemplo de diversos estudios que se han realizado, en los que se hace una comparación entre IFI y ELISA, en lo que generalmente se concluye que IFI es específica y ELISA sensible, pero en este estudio, nos enfocamos en que estas técnicas, funcionan mejor juntas, es decir se complementan ya que por medio de IFI se determinan el título y el patrón por lo que nos ayuda a limitar, la búsqueda de anticuerpos contra los antígenos en específico, lo cual se completa con ELISA, pero lo que si se puede deducir, es que ninguna de las 2, son una mejor opción como pruebas de tamiz que quimioluminiscencia.

La tabla 28 muestra los patrones obtenidos por la técnica de IFI, de las muestras de pacientes que resultaron positivos a la prueba de quimioluminiscencia, por medio del patrón se limitan el tipo de anticuerpos que se crean contra ciertos antígenos en específico determinados por la técnica de ELISA y que se aprecian en la tabla 29.

En el gráfico 46, se muestra gráficamente la frecuencia con la que se presentan ciertos patrones celulares siendo su frecuencia en el siguiente orden moteado grueso, homogéneo, centromérico, citoplasmático, moteado fino y periférico.

La obtención del patrón moteado fino, muestran 60 muestras positivas para anti SS-B; 21 muestras positivas para anti SS-A y anti-SSB; la presencia de los anticuerpos contra estos antígenos son un 70 a 95%.

Las muestras analizadas, como ya se mencionó son muestras de pacientes sospechosos de presentar alguna enfermedad autoinmune y algunos ya diagnosticado, y se les manda a realizar las pruebas, como prueba de rutina para dar seguimiento a la enfermedad. Por lo que no se pudo determinar cuales realmente presentan la enfermedad y cuales son solo sospechosos, ya que el diagnóstico, real lo hace el médico, uniendo manifestaciones clínicas del paciente (signos y síntomas) así como resultados de laboratorio Clínico.

El SS, es una enfermedad que en la población mexicana se presenta en un 3%, pero además de un 30 a 50% de probabilidades de que estos anticuerpos se presenten en paciente con LES lo mismo que el antígeno anti-Sm.

De los 35 muestras que resultaron positivas para un patrón homogéneo, al realizarle la prueba de ELISA, resultaron positivas para anti-DNA, anticuerpos específicos para LES.

El patrón citoplasmático es positivo debido a que se manifiestan anticuerpos antimitocondriales, específicos para Hepatitis autoinmune, y que se dirigen contra el nDNA.

El patrón centromérico se debe a la presencia de anticuerpos contra el centrómero, este tipo de anticuerpos es asociado a la esclerosis, para esclerosis en un 90% es específico, y se crean anticuerpos contra el centrómero.

Para poder correlacionar, los resultados obtenidos de los anticuerpos anti-DNA y ANA por las técnicas manejadas de QL, IFI y ELISA, con las enfermedades de los pacientes que resultaron positivos a estos anticuerpos, ya que el tipo de anticuerpo es de acuerdo a la enfermedad, se analiza la tabla 30.

Las personas que presentan LES, fueron positivos en los anticuerpos ANA y anti-DNA. Los patrones obtenidos, fueron homogéneo, periférico, moteado grueso y moteado fino. El patrón homogéneo es positivo a anti-DNA, periférico a anti-Histonas, moteado grueso SSA y SSB, y el moteado fino a anti-Sm. Todos estos anticuerpos se presentan en LES, aunque algunos con mayor frecuencia que otros, los anticuerpos anti-DNA, son los más proliferativos y más propios y selectivos de LES, los otros anticuerpos, en especial anti-SSA y anti-SSB no se ven mucho pero si se pueden presentar en pacientes con LES.

Kiss E. y col, en 2009, en Hungría. Evaluó la frecuencia y la concentración de anticuerpos antinucleosoma en pacientes con LES. La aparición de los anticuerpos antinucleosoma positivo, anti-dsDNA y anti-histona (AH) fueron 39.2, 28.0 y 47.6%, respectivamente. Los tres anticuerpos estuvieron representados con títulos significativamente mayor en pacientes con nefritis lúpica. Además la detección de anti-DNA de doble cadena, anticuerpos antinucleosomas y anticuerpos aH podría ser útil en el diagnóstico y seguimiento del LES.

Los pacientes que, presentan la enfermedad de Púrpura Trombocitopénica, también se les pide que se les determine ANA, ya que la púrpura trombocitopénica en la que se encuentran ANA, normalmente es consecuencia de otras enfermedades primarias, lo que se debe de confirmar con otras pruebas.

Altintas, y col. 2007, en Turquía demuestran que la positividad de ANA se encuentran a menudo en pacientes adultos y niños con PTI, e indican que la detección de positividad de ANA no es suficiente para identificar a los pacientes con PTI que están en riesgo de desarrollar LES u otras CTD.

El lupus eritematoso sistémico (LES) se caracteriza por la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA). ANA están dirigidos contra el ADN nativo, así como proteínas histonas y ribonucleoproteínas nucleares pequeñas, también puede ser dirigida contra toda la cromatina, consistió en nucleosomas. La aparición de anticuerpos anti-dsDNA y anti-histona (AH) fueron 39.2, 28.0 y 47.6%, respectivamente. Los tres anticuerpos estuvieron representados con títulos significativamente mayor en pacientes con nefritis lúpico. Se observó una correlación positiva entre la concentración de estos autoanticuerpos y actividad de la enfermedad.

La mayoría de los pacientes con nefritis lúpica tienen anticuerpos anticromatina/nucleosoma (especificidad 98%, sensibilidad 69%) los cuales pueden ser positivos cuando los anticuerpos anti-DNA de doble cadena son negativos. Hallazgos similares se observaron con anticuerpos anti-C1q, (negativo valor predictivo positivo de 97% -100%).

Los anticuerpos antinucleares (ANA), juegan un papel clave en la patogenia y el diagnóstico de muchas enfermedades autoinmunes. Además, las pruebas diagnósticas de laboratorio son útiles y esenciales, para estas enfermedades, existen pacientes sanos que son seropositivos para ANA en un 20% a 31% pero también es cierto que pacientes con ANA, han resultado ser seronegativos.

Por otra parte, otras enfermedades menos características a veces cuentan con la seropositividad de ANA, como la hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, púrpura trombocitopénica idiopática (PTI), y esclerosis múltiple. Por lo tanto, "son positivos en las pruebas de ANA mucho más frecuente que las enfermedades del tejido conectivo", especialmente en los ancianos, y "La mayoría de los resultados anormales son falsos positivos".

El título de ANA tiene algún poder de discriminación. Por ejemplo, 20% a 30% de individuos sanos libres de enfermedades tienen un título de ANA mayor o igual a 1:40. Así, este rango se cita con frecuencia como el umbral de la anormal por la mayoría de los laboratorios, aunque hasta un 12% de los individuos normales pueden tener un título superior o igual a 1:80. Los títulos de ANA de hasta 1:640 se puede ver en los niños que no tienen SLE. La prueba de ANA sólo debe ser ordenada en el contexto de los signos clínicos que se correlacionan con enfermedades relacionadas. ANA es la prueba particularmente útil para los 4 principales condiciones, cuando se sospeche: esclerosis, LES, Esclerodermia sistémica, polimiositis / dermatomiositis, y Síndrome de Sjögren.

Según, John B. Waits reporta que por el contrario, otras enfermedades cuentan con un número significativo de los individuos que son ANA positivos, pero esto tiene poco valor diagnóstico o pronóstico (Por ejemplo, AR, 30% -50%; fibromialgia, 15% -25%; PTI, 10% -30%, y la esclerosis múltiple, 25%).

Los anticuerpos antimitocondriales (AMA) fueron descritos por primera vez en pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP) de más de 40 años y seguirá siendo considerado como el sello inmunológico más sensible y específico de la enfermedad. IFI revela el patrón clásico inmunomorfológico de AMA, que corresponde a la tinción citoplasmática.

Para el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes, se realizan pruebas de laboratorio, que son de suma utilidad, entre estas pruebas se encuentran la VSG, plaquetas, C3 y C4.

En la tabla 31 se muestran los resultados que nos muestran que el grupo más afectado es el sexo femenino más que el sexo masculino, cabe señalar que los pacientes analizados son, pacientes que están en la edad reproductiva, ya que son mayores de 15 años.

La mayoría de las teorías coinciden en que es el factor hormonal es el que influye en este aspecto ya que, si el paciente presenta células autorreactivas, estas aumentan su respuesta debido al estradiol ya que este se une a los receptores de los linfocitos T y B, amplificando su activación y supervivencia, con lo que favorece una respuesta inmunitaria prolongada.

En la tabla 32 se toma como referencia, los valores normales de los marcadores VSG, plaquetas y proteínas del complemento C3 y C4, y la forma en la que estos resultados son alterados, en las enfermedades autoinmunes, la mayoría de las veces las plaquetas, las proteínas del complemento C3 y C4, se ven disminuidas y las VSG se encuentran altas.

Los valores de VSG se elevan dado que sedimentan mayor cantidad de eritrocitos en una hora, LES, SAF, AHAI existen anticuerpos aCL, que lisan a los eritrocitos, disminuyendo su volumen así que cuando se colocan en el tubo Wintrobe existen menos masa globular y sedimentan más rápido, también otra forma es que existe anisocitosis, por lo que su morfología cambia así que su velocidad de sedimentación cambia. En las enfermedades autoinmunes se aumentan proteínas inflamatorias, lo que provoca un aumento en la VSG. Los biomarcadores que más resultan alterados son VSG, plaquetas y al último las proteínas de complemento, demostrándose así que las células rojas son una de las principales afectadas en estas enfermedades.

Velocidad de sedimentación globular (VSG) es comúnmente elevada en las enfermedades inflamatorias, como artritis reumatoide, articulación séptica, una osteomielitis, polimialgia reumática (PMR).

La prueba de VSG es la más comúnmente utilizada como biomarcador de inflamación. La VSG es mejor medirla después de un curso de la enfermedad que en la discriminación de la presencia o ausencia de la enfermedad. ^(Bennett CM.2009)

La VSG tiene un papel definitivo en la evaluación de un paciente con dolor indiferenciado en las articulaciones, teniendo en cuenta que un resultado normal no se puede descartar la enfermedad o discriminar entre la AR, lupus eritematoso sistémico (LES), o de otra índole inflamatoria. "Una aplicación más adecuada de estas pruebas en las enfermedades inflamatorias, es para el monitoreo de la actividad de la enfermedad. Por ejemplo, muchas personas con artritis reumatoide activa tienen valores normales de VSG muchos pacientes con AR inactivos tienen una elevación de la VSG

Los valores de plaquetas disminuyen, ya que en los pacientes lúpicos, SAF, se han encontrado anticuerpos antiplaquetarios, produciéndose así la disminución de plaquetas.

Algunos pacientes con lupus (aproximadamente el 6%) tienen deficiencias heredadas de los primeros componentes del complemento, tales como C2, C4 o C1q. La falta de complemento puede empeorar la eliminación de inmunocomplejos circulantes por los fagocitos mononucleares, favoreciendo así el depósito en los tejidos.

Niveles bajos se pueden observar en enfermedades por inmunocomplejos activas como LES y crioglobulinemias, donde los componentes se consumen. Por este motivo la determinación de C3 y C4 permite seguir y en algunos casos estimar la actividad de la enfermedad. ^(Abúil 2008)

En base a los resultados se observa que no se altera solo un biomarcador, sino que se pueden alterar simultáneamente dos, tres o cuatro de una forma variada, o incluso en un bajo porcentaje no están alterados ninguno de los cuatro biomarcadores. No hay un prototipo o un comportamiento estándar de estos biomarcadores en enfermedades autoinmunes, ya que como lo demuestran los resultados estos biomarcadores, se alteran al azar, en combinaciones diferentes.

CONCLUSIONES.

1.- Utilizar la técnica de QL como prueba de tamiz para la determinación de ANA y anti-DNA.

Se utilizó a QL como técnica de tamiz, y no a IFI que es considerada como la prueba de oro, y los resultados obtenidos fueron fiables ya que QL es una técnica con ventajas que superan a las desventajas de IFI, ya que muestras que fueron positivas en QL, resultaron negativas en IFI, por lo que es mejor utilizar a QL como prueba de tamizaje.

2.- Analizar por técnica de IFI las muestras séricas que fueran positivas a ANA y anti-DNA por la técnica de QL, para identificar por medio de los patrones de inmunofluorescencia el tipo de ANA que presentan.

Al analizar las muestras que fueron positivas a quimioluminiscencia, secundariamente por IFI se obtuvo que el 90% de las muestras también fueron positivas a IFI y solo el 10% fueron negativas a IFI, mismos que se atribuye a la implicación de las desventajas de IFI, por lo que concluyo que QL, es una prueba de elección mejor que IFI como prueba de tamiz. Para complementar estos resultados se concluye que las muestras que fueron positivas en QL pero negativas en IFI, faltó que también se hubiesen analizado por ELISA, y de esta manera se hubiese tenido a ELISA, como una referencia muy seguramente a favor de QL.

3.- Determinar con la técnica de ELISA, las muestras que resulten positivas a IFI para identificar el o los, antígeno (s) específico (s) contra los que existen anticuerpos en estas muestras séricas, tales como: Jo, La, Ro, Sm y Scl-70.

Con la prueba de ELISA, se logró determinar los antígenos específicos, los cuales se correlacionan con los anticuerpos tales como: SSA (Ro), SSB (La), anti-Sm, Jo-1, Scl-70 y estos a su vez con la enfermedad que presentaron los pacientes. Al correlacionar los anticuerpos contra las enfermedades se ayuda de una forma muy importante al médico para confirmar o llegar a un diagnóstico más confiable.

4.- Demostrar que las técnicas de QL, IFI y ELISA, son complementarias.

En pocas palabras se concluye que el papel fundamental de las técnicas utilizadas son complementarias

Quimioluminiscencia: Prueba de tamiz, para descartar aquellas muestras que presentan ANA y/o anticuerpos anti-DNA.

IFI: Prueba de determinación de patrones celulares, que se vuelve un filtro para ciertos anticuerpos.

ELISA: Es la prueba que determina a los anticuerpos en específico.

La QL, es una técnica ideal como prueba de tamiz, pero no nos ayudó a determinar, contra que antígenos se crean anticuerpos, a excepción de los anti-DNA. Con la ayuda de IFI y ELISA, si lo pudimos hacer y al mismo correlacionar estos datos junto, con las enfermedades que muestran los pacientes,

IFI, nos muestra los patrones celulares, lo cuales son característicos o propios de cierto grupo de anticuerpos dirigidos contra cierto grupo exclusivo de antígenos. Al obtenerse el patrón celular por IFI, se limitó el grupo de anticuerpos de búsqueda con la técnica de ELISA y posteriormente se correlacionan con las enfermedades que muestran algunos pacientes.

Al obtenerse los patrones obtenidos por IFI, se limita el grupo de búsqueda de los anticuerpos, las muestras se sometieron a la búsqueda de los anticuerpos por ELISA. El patrón es una guía fundamental en la busque de anticuerpos, al obtenerse los anticuerpos, se correlacionaron con las enfermedades que presuntamente mostraban los pacientes. , lo que no hubiera podido ser posible, si no se hubiera hecho uso de las tres técnicas, los resultados, no se hubieran completado y solo se hubieran quedado en el punto de sugerencia a contra que antígenos se crean anticuerpos.

5.- Demostrar que el sexo femenino es el más afectado en este tipo de enfermedades autoinmunes.

El sexo femenino resultó ser el más afectado con las enfermedades de origen autoinmune, más que el sexo masculino, y en edad reproductiva son las más vulnerables a manifestar este tipo de enfermedades, y lo pudimos comprobar aquí, ya que el 81% de los pacientes son mujeres y el 19% fueron varones.

6.- Relacionar los parámetros de VSG, plaquetas y las proteínas del complemento C3 y C4 para apreciar como se alteran estos en las enfermedades autoinmunes, y si son herramienta básica en el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes.

Una VSG, alta, plaquetas, C3 y C4 bajos, son la forma en que estos parámetros resultaron ser afectado en este estudio, pero existen otras diferentes combinaciones, que se muestran en los resultados, por lo que se concluye que estos parámetros no deben de ser omitidos en la búsqueda de las enfermedades autoinmunes. La VSG es probablemente el índice más ampliamente medido de la respuesta de fase aguda. La determinación de los niveles del complemento (C3 y / o C4) es muy útil en el seguimiento del lupus eritematoso sistémico (LES) y la glomerulonefritis membranoproliferativa.

La enfermedad inmune resulta en un complejo que involucra el depósito de complejos antígeno-anticuerpo en los tejidos orgánicos y que terminan en glomerulonefritis por inmunocomplejos en pacientes con LES, la disminución de los niveles C3 y C4 que indican un aumento del consumo y la actividad de enfermedad. Por el contrario, el aumento de los niveles de C3 y C4, indica trastornos inflamatorios porque estas proteínas son también reactantes de fase aguda.

BIBLIOGRAFÍA

LIBROS

1. Abbas Abúl, et al. Inmunología Celular y Molecular.6^a ed. Barcelona, España Ed. ELSIVER SAUNDERS. 2008. 531 pps.
2. Canale and Beauty: Campbell Operative Orthopaedics.11 th.2007.Elsevier
3. Hsia Elizabeth, MD, Lewis Rose, MD, Keith Hull, MD, PhD, Stephen D. Sisson MD. Last updated, Sclerodermia., LES.24 August 2007. ELSEVIER
4. Firestein. Libro de texto de Kelley de la Reumatología, 8^a ed. Capítulo 32.El Síndrome de los Anticuerpos Antifosfolípidos. Los Marcadores Biológicos.2008.
5. Habif. Dermatología Clínica, 5^a ed. 2009, una huella de ELSEVIER.
6. Harrison. et, al. Principios de Medicina Interna. McGraw Hill. 16^a edición. Vol I pps2153-2205.
7. Hoffman: Principios y Práctica: Hematología 5^a ed. Copyright. 2008. Churchill Livingstone una huella de Elsevier.
8. Irigoyen María de Lourdes. Guías Prácticas para el Laboratorio de Inmunología. Actualidades Diagnósticas de las Enfermedades Autoinmunes Reumatológicas.2^{da} ed. Editorial. MFM. Mèxico.2005-2006pps 347.
9. Kliegman: Nelson Textbook of Pediatrics, 18th ed.; Chapter 159 - Scleroderma and Raynaud Phenomenon.
10. Robbins and Cotran. Patología Estructural y Funcional., 8th ed. ELSEVIER. Madrid España. Julio 2011.228-230 pp.
11. Liaison-Diasorin. Prueba de ANA y anti-DNA por QL.2009.1-20 pps
12. McPherson y Pincus: Diagnóstico clínico de Henry y de gestión por los métodos de laboratorio21a ed.2006.
13. Runge. Netters Cardiology. 2do ed. Elsevier 2008. 672 pgs.
14. Saül Amado. Lecciones de Dermatología.14^a ed. Capítulo. 16. Enfermedades Difusas del Tejido Conjuntivo (Colagenòsis). 2008. Méndez Editores, S.A de C.V.14^a edición, 755 pps.
15. Schneider L. Benjamín, Frederick J. Suchy: Nelson Textbook of Pediatrics, 18th ed.; Chapter 359 - Autoimmune and Chronic Hepatitis

ARTÍCULOS

16. Amy José, MD, Richard Brasington, MD, Leslie Kahl, MD. "Rheumatic Diseases Immunological". (Department of Internal Medicine, División of Rheumatology, Washington University School of Medicine, St Louis, Mo St. Louis VA Medical. Center, St. Louis) Journal of Allergy and Clinical Immunology- Volumen 125, Número 2 Suppl 2 febrero 2010. 40 pps.
17. Altintas A, Ozel A, Okur N, Okur N, Cil T, Pasa S, Ayyildiz O. Prevalence and clinical significance of elevated antinuclear antibody test in children and adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Department of Hematology-Oncology, Internal Medicine, Dicle University, 21280 Diyarbakir, Turkey. J Thromb Thrombolysis. 2007 Oct;24(2):163-8. 2007 .
18. Breda L, Nozzi M, De Sanctis S, Chiarelli F. Laboratory tests in the diagnosis and follow-up of pediatric rheumatic diseases: an update. Department of Pediatrics, Reumatology Unit, University of Chieti, Chieti, Italy. Semin Arthritis Rheum. 2010 Aug;40(1):53-72. 2009.
19. Buskila Dan Enfermedades Reumáticas Clínicas de América del Norte", La hepatitis C asociada a enfermedades reumáticas. (Saunders Company.DOI. División de Medicina Interna, Departamento de H Medicina, Centro Médico Soroka, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Ben Gurrión). Volumen 35. Febrero 2009.
20. Bennett CM. Chronic Immune Thrombocytopenia in Children: Epidemiology and Clinical Presentation. Hematology/Oncology Clinics of North America - Volume 23, Issue 6 (December 2009) - Copyright © 2009 W. B. Saunders Company - About This Journal Add Journals Issue Alert DOI: 10.1016/j.hoc.2009.08.002
21. Cabiedes Javier y Carlos A. Núñez Álvarez."Anticuerpos Antinucleares". Reumatología Clínica. Laboratorio de Inmunología. Departamento de Inmunología y Reumatología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Elsevier. Julio 2009.
22. Cader MZ, Filer AD, Buckley CD, Raza K. The relationship between the presence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and clinical phenotype in very early rheumatoid Arthritis. BMC Musculoskelet Disord. 2010; 11: 187. Published online.
23. Christine Castro, NO*, Marcos Gourley. "Diagnostic testing and interpretation of test for autoimmunity". (National Institute of Arthritis and Skin Diseases, National Institutes of Health. Publisher by Elsevier Inc., on behalf of the American Academy). Volumen 125, Número 2 Suppl 2 (febrero 2010) - Capítulo 20.
24. Copple SS, Sawitzke AD, Wilson AM, Tebo AE, Hill HR. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay screening then indirect Immunofluorescence confirmation of antinuclear antibodies: a statistical analysis. Am J Clin Pathol. 2011 May; 135 (5):678-84. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21502422>

25. El-Chennawi FA, Mosaad YM, Habib HM, El-Degheidi T. Comparative study of antinuclear antibody detection by indirect immunofluorescence and enzyme immunoassay in lupus patients. Clinical Immunology Unit, Clinical Pathology Department, Mansoura Faculty of Medicine, Mansoura, Egypt. *Immunol Invest.* 2009; 38 (8):839-50.
26. Fernández Miryam. “Autoanticuerpos más frecuentes en enfermedades del tejido conectivo” .*Revista de la Sociedad de Medicina Interna de Buenos Aires.* Vol 02. Año 2007.
27. Forastiero Ricardo R. Marta Elba Martinuzzo^{1*} Effect of Antiphospholipid antibodies on activated factor X inhibition Potential Physiopathology Mechanism of the Antiphospholipid syndrome. University o Buenos Aires. * Servicio de Hematology, Hemostasia y Trombosis, Institute of Cardiology and Cirug.
28. García Rodríguez. et al. Ventajas del Método de Quimioluminiscencia Frente al Radioinmunoanálisis (RIA). Laboratorio de Endocrinología y Biomarcadores, Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud (SELADIS). Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA. La Paz – Bolivia. Vol 2. No2, 2009.
29. Gutiérrez Viviana, María C. Romero, Oscar J. Felipe, Ana María Santos.”Capacidad de las células Hep-2, Hep-2000 Inmunofluorescencia y Hep-2000 Colorzyme, en la determinación de ANAS y SSA/Ro en la evaluación inicial en pacientes con Enfermedad del Tejido Conectivo no Diferenciada”. *Revista Colombiana de Reumatología.* Vol 14, No1, Marzo 2007, pps. 11-22.
30. John B. Waits, MD. Rational Use of Laboratory Testing in the Initial Evaluation of Soft Tissue and Joint Complaints. Primary Care: Clinics in Office Practice - Volume 37, Issue 4 (December 2010) - Copyright © 2010 W. B. Saunders Company - About This Journal Add Journals Issue Alert.
31. Kiss E, Lakos G, Szegedi G, Poor G, Szodoray P. Autoimmunity. 2009 Aug; 42(5):393-8. Anti-nucleosome antibody, a reliable indicator for lupus nephritis.. National Institute of Rheumatology and Physiotherapy, H-1525, Budapest, Hungary.
32. María del Roció. Comparación entre quimioluminiscencia e inmunofluorescencia indirecta en la determinación de anticuerpos antinucleares.. Departamento de Laboratorio Clínico Centro Médico ABC Observatorio, 2010Mèxico D.F. pps 10.
33. Michels, W Aarón. MD, George S. Eisenbarth, MD, PhD, Immunologic Endocrine Disorders. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* Volumen 125, Issue 2 Suppl 2 (February 2010). Copyright 2010.Mosby, Inc.
34. Cader MZ, Filer AD, Buckley CD, Raza K. The relationship between the presence of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and clinical phenotype in very early rheumatoid Arthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010; 11: 187. Published online 2010 August 23. doi: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2936346/?tool=pubmed>

35. Luigi Muratori, MD, PhD* Antimitochondrial Antibodies and Other Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis: Diagnostic and Prognostic Value. *Clinics in Liver Disease - Volume 12, Issue 2 (May 2008)* - Copyright © 2008 W. B. Saunders Company - About This Journal Add Journals Issue Alert DOI: 10.1016/j.cld.2008.02.009
36. Mieli- Vergani G. Autoimmune hepatitis in children: what is different from adult AIH? - - *Semin Liver Dis* - 01-AUG-2009; 29(3): 297-306 (MEDLINE® is the source for the citation and abstract of this record). DOI: 10.1055/s-0029-1233529
37. P. Ghillani, M. Rouquette, C. Desgruelles, N. Hauguel, C. LE. Pendeven, J. C. Piette, L. Musset. Evaluation of the LIAISON ANA Screen Assay for Antinuclear Antibody Testing in Autoimmune Diseases. Article first published online: 29 AUG 2007
38. Pierangeli SS; Chen PP; Raschi E; Scurati S; Grossi C; Borghi MO; Palomo I; Harris EN; Meroni PL. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome: pathogenic mechanisms. *Semin Thromb Hemost* - 01-APR-2008; 236-50 MEDLINE® is the source for the citation and abstract of this record
39. Quintana Gerardo, et. al. Aplicación Clínica de los Anticuerpos en Lupus Eritematoso Sistémico. *Revista Colombiana de Reumatología*. vol 10, No1 Marzo 2005, pp. 32-34
40. Sally E. Self, MD. Autoantibody Testing for Autoimmune Disease. *Clinics in Chest Medicine – Department of Pathology and Laboratory Medicine, Medical University of South Carolina*, 165. Volume 31, Issue 3 (September 2010). Ashley Avenue, Suite 309, Charleston, SC 29425, USA
41. Tanaka N. Muro Y, Sugiura K, Tomita Y. Anti-SS-A/Ro antibody Determination by Indirect Immunofluorescence and Comparison of Different Methods of Antinuclear Antibody Screening; Evaluation of the utility of HEp-2 cells transfected with the 60kDa SS-A/Ro as a substrate. *Mod Rheumatol. División of Connective Tissue Disease and Autoimmunity, Department of Dermatology*. Julio 17 del 2008, pps 585-592. (MEDLINE® is the source for the citation and abstract of this record
42. Yang JY, Oh EJ, Kim Y, Park YJ. Evaluation of Anti-dsDNA antibody tests: Crithidia luciliae immunofluorescence test, immunoblot, enzyme-linked immunosorbent assay, chemiluminescence immunoassay. *Korean J Lab Med*. 2010 Dec;30(6):675-84. Department of Laboratory Medicine, The Catholic University of Korea School of Medicine, Seoul, Korea.

INSTRUCTIVOS

43. BIO-RAD. Autoimmune EIA. Anti. ENA. Instruction Manual. Anti-ENA IgG Test Kit, 96 test. págs. 1-25.2008.
44. EUROIMMUN. Product Catalogue of Techniques IFI y ELISA.2008.EUA.

DIRECCIONES ELECTRÓNICAS

45. Armando Fortuny. La quimioluminiscencia.
<http://www.monografias.com/trabajos11/quimilu/quimilu.shtml>
46. Cadena de DNA. <http://www.biotech.bioetica.org/images/adn.jpg>
47. Linfocitos T cooperadores .<http://www.med.uva.es/pingo/Inmuno2007/Semi7LinfosTh.pdf>
48. Automatización del hemograma.
49. http://www.ifcc.org/div/pdf/trabajos/Automatizacion_del_hemograma_Nilda.pdf
50. Dra. Verónica Mezzano. Uso del laboratorio Reumatológico.
51. <http://escuela.med.puc.cl/publ/apuntesreumatologia/pdf/usolaboratorio.pdf>
52. Complejo de DNA-Histonas: <http://www.biotech.bioetica.org/images/adn.jpg>
53. Célula LE. <http://www.telmeds.org/wp-content/uploads/2009/06/celulas-le1.jpg>
54. Alas de mariposa.
55. http://a248.e.akamai.net/7/248/430/20110819220556/www.msd.com.mx/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_05/images/seccion_05_09.gif
56. Ojo seco. http://sacramento.networkofcare.org/media/medical/hw/s_h9991343_001.jpg
57. http://a248.e.akamai.net/7/248/847/20060531125418/www.msd.es/publicaciones/mmerck_hogar/seccion_08/images/seccion_08_03.gif
58. Polimiositis. <http://www.netterimages.com/images/vtn/000/000/032/32086-150x150.jpg>.
59. <http://www.mdconsult.com/das/article/body/316876238-7/jorg=clinics&source=MI&sp=23526381&sid=1266639979/N/759134/s0272523110000602.pdf?issn=0272-5231>
60. <http://revista.inmunologia.org/Upload/Articles/3/6/364.pdf>