



UNIVERSIDAD DE CUENCA
desde 1867

UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE INTERLEUCINA 6 (IL-6),
PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN
PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGÍAS AUTOINMUNES**

Tesis previa a la obtención de título en
Bioquímica y Farmacia

AUTORAS:

MARIELA LEONOR ILLESCAS CAMPOVERDE

EULALIA ROCIO VILLA NARANJO

DIRECTORA:

DRA. SANDRA PAOLA CABRERA FAICÁN

CUENCA - ECUADOR

2013



RESUMEN

El presente estudio se enfocó en la determinación de la concentración sérica de Interleucina 6 (IL-6), Proteína C Reactiva (PCR) y Factor Reumatoide (FR) en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes atendidos en el Hospital José Carrasco Arteaga de la Ciudad de Cuenca, durante los meses de junio y julio de 2013. Se analizaron 50 muestras, como grupo control negativo se recogieron 5 muestras de personas sanas correspondiente al 10% de la población estudiada. Para la determinación de IL-6 se utilizó el método de ELISA y para determinar PCR y FR se empleó Turbidimetría.

Los datos se analizaron en el programa SPSS V 15.0, en función del tipo de variable se emplearon tablas y gráficos para su interpretación.

De la población en estudio 15 pacientes (30%) presentaron elevación de IL-6, 20 pacientes (40%) presentaron elevación de PCR y 13 pacientes (26%) presentaron elevación de FR pudiendo deberse al tratamiento que reciben. Sin embargo, hay pacientes con valores bastante elevados de estos tres factores en comparación a su valor referencial máximo, que pueden provocar efectos perjudiciales, empeorando así el estado de salud y calidad de vida del paciente. Se encontró correlación estadísticamente significativa entre los valores de IL-6, PCR y FR ($p < 0.05$). Se demuestra también que no existe correlación estadísticamente significativa ($p > 0.05$) de IL-6, PCR y FR con género, edad e instrucción de los pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes.

Se observó que el tratamiento con medicamentos biológicos es poco empleado en nuestro medio en la actualidad.

Palabras clave: Interleucina – 6, Proteína C Reactiva, Factor Reumatoide, IL-6, PCR, FR, Patologías Autoinmunes, ELISA, Turbidimetría.



ABSTRACT

The present study focused on the concentration of serum Interleukin-6 (IL-6), C-Reactive Protein (CRP) and Rheumatoid Factor (RF) in patients diagnosed with autoimmune diseases treated in the hospital Jose Carrasco Arteaga during the months of June and July 2013. 50 samples were analyzed, as a negative control group 5 specimens were collected from persons corresponding to 10% of the studied healthy population. For the determination of IL-6 the method of ELISA will be used, and to determine CRP and RF turbidimetry was employed.

The data was analyzed in the SPSS V 15.0 program in a variable type function. Charts and graphs were utilized for data interpretation.

Study of 15 patients (30%) showed elevated IL-6, 20 patients (40%) showed CRP elevation and 13 patients (26%) presented elevation of RF which may be due to treatment. However, there are patients with very high values of these three factors in comparison to its maximum reference value, which can cause harmful effects, worsening the health condition and quality of life of the patient. It found statistically significant correlation between the values of IL-6, CRP, and RF ($p < 0.05$). It also shows no statistically significant correlation ($p > 0.05$) IL-6, CRP, and RF with gender, age or instruction of patients diagnosed with autoimmune diseases.

It was observed that biological treatment is rarely used in our midst today.

Key Words: Interleukin-6, C - Reactive Protein, Rheumatoid Factor, IL-6, CRP, RF, Autoimmune Diseases, ELISA, Turbidimetry.



ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	13
CAPITULO I	
CONTENIDO TEÓRICO	
1.1. INMUNIDAD HUMORAL	15
1.2. CITOCINAS	16
1.3. INTERLEUCINA – 6	19
1.3.1. RELACIÓN ENTRE IL-6, PCR Y FR	24
1.4. REACTANTES DE FASE AGUDA	24
1.4.1. DESENCADENAMIENTO DE LA RESPUESTA DE FASE AGUDA	25
1.4.2. PROTEÍNA C REACTIVA	26
1.5. FACTOR REUMATOIDE	28
1.6. ENFERMEDADES AUTOINMUNES	29
1.7. TRATAMIENTO	30
CAPITULO II	
MATERIALES Y MÉTODOS	
2.1. OBJETIVO GENERAL	33
2.2. HIPÓTESIS	33
2.3. METODOLOGÍA	33

Página



2.3.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN	33
2.3.2.	POBLACIÓN	33
2.3.3.	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	33
2.3.4.	TAMAÑO DE LA MUESTRA Y MUESTREO	33
2.3.5.	ÁREA DE ESTUDIO	34
2.3.6.	PROCEDIMIENTOS	34
2.3.7.	TRANSPORTE Y MANEJO DE MUESTRAS	34
2.4.	TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE IL-6, PCR Y FR	35
2.5.	MANEJO ESTADÍSTICO DE DATOS	36
CAPITULO III		
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
CAPITULO IV		
4.1.	CONCLUSIONES	57
4.2.	RECOMENDACIONES	58
	BIBLIOGRAFÍA	59
	ANEXOS	67



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Eulalia Rocio Villa Naranjo, autor de la tesis "**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE INTERLEUCINA 6 (IL-6), PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGÍAS AUTOINMUNES**", reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 5 de noviembre de 2013

Eulalia Rocio Villa Naranjo
0105989586

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Mariela Leonor Illescas Campoverde, autor de la tesis **“DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE INTERLEUCINA 6 (IL-6), PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGÍAS AUTOINMUNES”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Bioquímica Farmacéutica. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 5 de noviembre de 2013

Mariela Leonor Illescas Campoverde
0104852959



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Mariela Leonor Illescas Campoverde, autor de la tesis **“DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE INTERLEUCINA 6 (IL-6), PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGÍAS AUTOINMUNES”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 5 de noviembre de 2013

Mariela Leonor Illescas Campoverde.
0104852959

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Eulalia Rocio Villa Naranjo, autor de la tesis "**DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE INTERLEUCINA 6 (IL-6), PROTEÍNA C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGÍAS AUTOINMUNES**", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 5 de noviembre de 2013

Eulalia Rocio Villa Naranjo.
0105989586

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos infinitamente:

En primer lugar a Dios, por bendecirnos y guiar nuestro camino cada día de nuestras vidas ya que todo lo que somos y tenemos se lo debemos a Él, quien es la fuente de vida, amor y sabiduría.

A nuestros familiares por su apoyo, sacrificio, consejos y paciencia incondicional que nos han brindado a lo largo de nuestra vida.

De manera especial y sincera a la Dra. Paola Cabrera Faicán., Mgt. por aceptar la dirección de esta tesis, por su apoyo y confianza en nuestro trabajo y su capacidad para guiar nuestras ideas. Su conocimiento, experiencia y paciencia han sido un aporte invaluable para el desarrollo de este trabajo. También le agradecemos infinitamente por habernos facilitado los medios necesarios para el desarrollo de los análisis realizados en este estudio.

A la Dra. María del Carmen Ochoa, Asesora de Tesis, por su gran paciencia, confianza y apertura, que de manera desinteresada nos facilitó y ayudó en la obtención de las muestras biológicas y datos necesarios para este estudio. Por compartir su tiempo y conocimiento con nosotras, siendo un gran apoyo para la realización de este trabajo.

A la Dra. Angélica Hidalgo por su apoyo, tiempo y guía que nos ha brindado desinteresadamente siendo una gran contribución para la realización de este trabajo.

Al Dr. Rubén Duque Aguilar, Director Técnico de Investigación y Docencia del Hospital “José Carrasco Arteaga” por permitirnos el acceso a dicha institución para la obtención de las muestras biológicas.

A todos quienes de una u otra manera han contribuido para la realización de esta tesis.



DEDICATORIA

Esta tesis la dedico de todo corazón:

A mi amado esposo Mauricio Tenemea, quien siempre con mucho amor, sacrificio, comprensión, dulzura y palabras de aliento a dado felicidad a mi vida, siendo una fuente de motivación y ayuda para seguir adelante. Gracias por creer en mí.

A mis amados Padres Bolívar Illescas y Leonor Campoverde que me dieron la vida y me sacaron adelante con mucho amor, inculcando en mí la superación como persona y mujer; y porque el orgullo que sienten por mí, fue lo que me hizo seguir hasta el final. Gracias por su sacrificio desinteresado y su apoyo incondicional.

A mi pequeña hermanita Jennifer, a quien amo como una hija. Gracias por habernos llegado a dar esa chispita de alegría a nuestras vidas.

Y a todas aquellas personas que cuando sentía ganas de decaer, estuvieron ahí animándome para seguir adelante. Gracias por su cariño.

Mil palabras no son suficientes para agradecerles a todos ustedes su apoyo, su comprensión y sus consejos en los momentos difíciles.

Mariela Leonor Illescas Campoverde



DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada con todo el amor de mi corazón a las personas que han llenado mi vida de felicidad:

De manera muy especial a mi mamita Eustela quien ha sido un pilar fundamental tanto en mi vida personal como estudiantil, muchas gracias por estar junto a mí en mis aciertos y errores con una palabra de aliento y sus consejos manifestados en los momentos que más lo he necesitado.

A Santiago y Fabián quienes más que mis hermanos mayores se han sabido desempeñar como excelentes padres sin importar si estaban cerca o lejos de mí, les agradezco infinitamente por todo el apoyo que me han otorgado.

A mis hermanos Elisabeth, Carlos y Paúl que han sabido brindarme su apoyo incondicional manifestado de diferentes maneras, desde una broma hasta un consejo, que al final me han sido de gran ayuda.

A mis sobrinitos David e Ethan y a mi cuñada Jessica por todo la ayuda que me han brindado durante todo este tiempo.

Eulalia Rocio Villa Naranjo



INTRODUCCIÓN

Las interleucinas son proteínas solubles de bajo peso molecular mediadoras de crecimiento celular, inflamación, inmunidad, diferenciación y reparación, entre otras actividades; sirven para iniciar la respuesta inflamatoria y para definir la magnitud y naturaleza de la respuesta inmune específica (1,2,3). La Interleucina-6 (IL-6) es producida por diversos tipos celulares como monocitos, macrófagos, linfocitos T y B, etc (3,4,5); es una molécula pleiotrópica con acciones proinflamatorias y antiinflamatorias que se encuentra elevada en enfermedades autoinmunes provocando efectos perjudiciales tanto a nivel local como sistémico en las personas que las padecen (3,5,6).

En las patologías autoinmunes los efectores inmunológicos actúan contra componentes de la propia biología corporal sin causa específica, es decir el sistema inmunitario se convierte en agresor mediante autoanticuerpos atacando partes del organismo en lugar de protegerlo (7,8,9,10).

Además al ser la IL-6 una de las principales inductoras de la síntesis de proteínas de fase aguda, es un determinante primario de la producción hepática de Proteína C Reactiva (PCR) (4,11,5,12,13). Por otro lado la PCR interactúa con las células endoteliales y estimula la producción de IL-6 y endotelina-1 (14). La PCR es una proteína plasmática no glicosilada, sintetizada principalmente por los hepatocitos en respuesta a procesos infecciosos, inflamatorios y de daño tisular, está normalmente presente en niveles muy bajos en el suero, pero se incrementa rápida y significativamente en respuesta a una variedad de condiciones inflamatorias o infecciosas (15,16).

La IL-6 activa los osteoclastos en presencia de su receptor soluble (sIL-6R), por estas razones se considera que su superproducción está involucrada con la aparición del Factor Reumatoide (FR), la hipergammaglobulinemia, la trombosis y la destrucción de las articulaciones (13). El FR se define como autoanticuerpos dirigidos contra determinantes antigénicos del fragmento Fracción constante (Fc) de las inmunoglobulinas G (IgG) tanto en condiciones fisiológicas como patológicas y es producido por células plasmáticas (17,18).



Por la influencia mencionada de la IL-6 sobre la PCR y FR, la elevación de estos tres factores y las consecuencias o efectos de ello, se desea analizar estos hechos en nuestro medio. Siendo este estudio de fundamental importancia debido a que la mayoría de los tratamientos actuales no van dirigidos a disminuir los efectos de la IL-6, en caso de demostrarse que esta se encuentra elevada se podría optar por un tratamiento específico, mejorando así el estado y calidad de vida de estos pacientes. Demostrando de esta manera a la comunidad la importancia y el gran valor clínico de la determinación de IL-6, que es una prueba no realizada en nuestra población. Obteniéndose datos de relevante importancia en la actualidad pudiéndose utilizar para nuevos estudios y así nutrir de información a los implicados en este campo de la medicina.



CAPITULO I

CONTENIDO TEÓRICO

1.1. INMUNIDAD HUMORAL

La palabra “inmunidad” deriva del latín *inmunis* “sin carga”, que luego se interpretó como “sin enfermedad” que hace referencia a la resistencia específica a ciertas enfermedades (19), abarca un conjunto de procesos biológicos por medio de los cuales el individuo mantiene su individualidad frente a numerosas sustancias (antígenos) a través de respuestas inmunológicas por parte del organismo (20). La respuesta inmunitaria se puede clasificar según como actúa contra el antígeno, si libera anticuerpos (Inmunidad Humoral), o si es mediada por células (Inmunidad Celular) (21).

La inmunidad humoral es el mecanismo específico de defensa que cumplen los linfocitos B, gracias a sus productos de secreción, los anticuerpos (Acs) llamados también inmunoglobulinas (Igs) (21). Está diseñada para eliminar a patógenos extracelulares y evitar la diseminación de los intracelulares aprovechando que estos últimos se transmiten de célula a célula a través de los fluidos extracelulares (22). La capacidad e intensidad defensiva aumenta después de cada exposición subsiguiente a un determinado microorganismo (23), ello se consigue por la producción de grandes cantidades de anticuerpos específicos frente a cada agente, mediante dos grandes fases: la fase de inducción de producción de anticuerpos y la fase efectora en la que dichos anticuerpos directamente o con mayor frecuencia indirectamente eliminan al patógeno (22).

En la fase de inducción el linfocito T colaborador o Helper (T_H) “virgen” reconoce a su péptido antigénico (procesado) adherido en el surco de Complejo Mayor de Histocompatibilidad II (MHC-II), en la superficie de una célula presentadora de antígeno (APC), ello provoca la activación y proliferación clonal de los linfocitos T_H activados. Por otro lado, la célula B reconoce al antígeno nativo por medio del receptor de las células B (BCR), lo



que desencadena la endocitosis y procesamiento endosómico de dicho antígeno. Algunos de los péptidos resultantes se muestran en el surco de moléculas MHC-II del propio linfocito B (22). El T_H activado interacciona mediante el receptor de las células T (TCR) con el complejo epítipo-MHC-II del linfocito B (22,24), en este contacto entre ambas células tiene lugar un intercambio de señales químicas que conduce a la activación, proliferación clonal y diferenciación de las células B en dos subclones hermanos: uno de células plasmáticas secretoras de anticuerpos y otro de células B cebadas de memoria (22).

En la fase efectora la eliminación efectiva del patógeno suele deberse a la estimulación de las funciones efectoras de los anticuerpos:

1. Activación del complemento por la ruta clásica, que puede conducir a
 - a. Lisis del patógeno
 - b. Quimiotaxis de fagocitos
 - c. Oponización de fagocitos
2. Oponización de fagocitos por inmunocomplejos Antígeno-Anticuerpo (Ag-Ac)
3. Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC): el anticuerpo se une a receptores para Fracción constante (Fc) en la superficie de células Natural Killer (NK) y macrófagos (22).

1.2. CITOCINAS

Las citocinas son polipéptidos o glucoproteínas extracelulares, hidrosolubles, que varían entre 8 y 30 kDa (26) constituidas por 120-180 aminoácidos (25). Se generan por medio de diversos tipos de células en la región de la lesión y por células del sistema inmunológico a través de la activación de proteincinasas activadas por mitógeno. A diferencia de las hormonas clásicas, las citocinas no se almacenan como moléculas preformadas, y actúan especialmente por mecanismos paracrino (en células vecinas) y autocrino (en sus propias células). Diferentes tipos de células segregan la misma citocina, y una única citocina puede actuar en diversos tipos de células, fenómeno denominado



pleiotropía. Las citocinas son redundantes en sus actividades es decir, acciones similares pueden ser desencadenadas por diferentes citocinas, una consecuencia de estas propiedades es que, en ausencia de una determinada citocina, sus funciones pueden ser reemplazadas total o parcialmente por otras, también pueden cumplir un sinergismo es decir, dos o más citoquinas producen un efecto que se potencia mutuamente; o a su vez antagonismo que es la inhibición o bloqueo mutuo de sus efectos (25,26,27).

A menudo se forma en cascada una citocina y ésta estimula a células blanco para que produzcan más citocinas. Esas sustancias están vinculadas a receptores específicos, activando mensajeros intracelulares que regulan la transcripción génica. Así, las citocinas influyen en la actividad, la diferenciación, la proliferación y la supervivencia de la célula inmunológica, como también regulan la producción y la actividad de otras citocinas, que pueden aumentar (proinflamatorias) o atenuar (antiinflamatorias) la respuesta inflamatoria, entre las consideradas proinflamatorias están IL-1, IL-2, IL-6, IL-7 y factor necrosis tumoral (TNF) y entre las antiinflamatorias están IL-4, IL-10, IL-13 y factor transformador de crecimiento β (FTC β) (26).

Debido a que no se clasifica a las citocinas en cuanto a la célula de origen o en cuanto a la función biológica, se agruparon en interleucinas (numeradas secuencialmente de IL-1 a IL-35), TNF, quimiocinas (citocinas quimiotácticas), interferones (IFN) y factores de crecimiento mesenquimal (26).

Las citocinas producen efectos muy variables que comprenden: modulación de la respuesta inmune, crecimiento y diferenciación de las células hematopoyéticas, regeneración tisular y angiogénesis, entre otras (27).

La expresión de la mayoría de las citocinas está estrictamente regulada; en general no se detecta una producción constitutiva significativa de estas moléculas, siendo necesaria la activación celular para que se produzcan citocinas en cantidades suficientes para ejercer sus efectos biológicos. La mayoría de las citocinas son secretadas al espacio extracelular, muchas de ellas en forma glicosilada que incrementa su estabilidad y solubilidad. No



obstante, algunas citocinas se pueden acumular intracelularmente o permanecer ancladas a la membrana o en la matriz extracelular (25).

En general, son moléculas que poseen una vida media muy corta, limitada al lapso de tiempo que dura el estímulo (debido a que los correspondientes ARN mensajeros tienen una corta vida media) y actúan a muy bajas concentraciones del orden de picogramos mediante la unión a receptores de alta afinidad presentes en la superficie de la propia célula productora o en otros muy variados tipos celulares (25, 27).

La actividad biológica de las citocinas se puede medir con distintas modalidades de bioensayos utilizando por ejemplo líneas celulares cuya función depende de la presencia del factor que se quiere estudiar. En la actualidad, se utilizan como técnica más habitual inmunoensayos en fase sólida como el Ensayo Inmuno Enzimático Absorbente (ELISA por sus siglas en inglés "Enzyme Linked Immuno Sorbent Asssay") para cuantificar la concentración de citocinas en fluidos biológicos y el Ensayo de Puntos por Inmunoabsorción Unida a Enzimas (ELISPOT por sus siglas en inglés Enzyme-Linked Immunosorbent Spot) para conocer el número de células productoras. También es posible cuantificar y caracterizar las células productoras identificando las citocinas intracelulares mediante citometría de flujo. Otra posibilidad es la utilización de técnicas de Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR del inglés Reverse transcription polymerase chain reaction) cuantitativa que permiten detectar y medir los niveles de ARN mensajero que codifican una determinada citocina (25).

1.3. INTERLEUCINA – 6

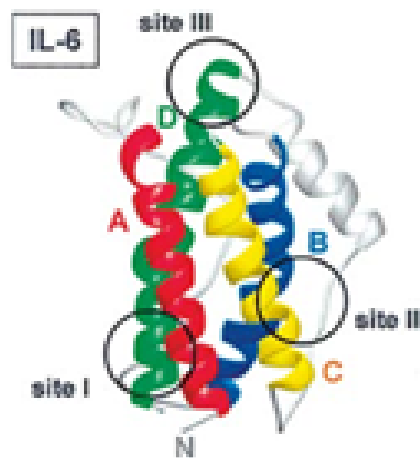


FIGURA 1.3.1. Estructura terciaria de la IL-6 (11)

La IL-6 pertenece a una amplia familia de citocinas que comparten el receptor de membrana glicoproteínas 130 (gp130), mediador de una señal específica de activación del sistema Janus Cinasas transductores de la señal y activadores de la transcripción (Jak/STAT por sus siglas en inglés Janus associated kinases/signal transducers and activators of transcription) (4). Tiene un peso molecular de 21 – 28 kDa y 184 aminoácidos, es codificada por un gen ubicado en el brazo corto del cromosoma 7. Está formada por cuatro hélices α , dispuestos en dos parejas de anti-paralelo hélices (5,11).

La IL-6 es producida por diversos tipos celulares: monocitos, macrófagos, linfocitos T y B, fibroblastos, células endoteliales, sinoviocitos, células de la glía, adipocitos y células epiteliales intestinales, entre otras (3,4,5). Los principales estímulos para su síntesis y liberación son las infecciones por ciertos microorganismos, particularmente virus y bacterias (lipopolisacárido bacteriano) y la acción de otras citocinas como la IL-1, TNF- α y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas. Así mismo, sus principales objetivos o dianas celulares son los linfocitos T y B, las células epiteliales, los monocitos/macrófagos y los hepatocitos (5).

La IL-6 es una molécula pleiotrópica con acciones proinflamatorias y antiinflamatorias, vinculándose así de modo importante y directo con la



fisiopatología de diferentes enfermedades autoinmunes (5,6). Los efectos de la IL-6 en la inmunidad dependen del contexto y de su concentración local, así como de la presencia o ausencia de otras proteínas reguladoras que actúan en la vía de transducción de señales o de la concentración de su receptor soluble (5).

La IL-6 es liberada sistémicamente desde el foco inflamatorio a la circulación y es capaz de alcanzar y actuar sobre los hepatocitos, pudiendo ser el tipo celular más relevante en sus acciones sistémicas. El hepatocito expresa los dos receptores IL-6R/gp130, por lo tanto es constitutivamente sensible a los efectos de la IL-6 (28).

Uno de sus efectos antiinflamatorios es ejercer un control parcial sobre la producción de IL-1 y TNF- α , además promueve la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas, induciendo la producción de inmunoglobulinas y también puede aumentar el desarrollo de precursores hematopoyéticos de todas las series sanguíneas (5,12).

Evidencias recientes indican que IL-6 promueve el desarrollo de células T-ayudadoras "17". Dichas células producen la citocina IL-17, una citocina proinflamatoria que ayuda al reclutamiento de otras células del sistema inmune en los tejidos periféricos y ejerce un efecto patogénico en diferentes enfermedades autoinmunes (5).

La elevación crónica de IL-6 promueve la aterogénesis directamente a través de efectos en la pared vascular (incrementando la liberación de moléculas de adhesión celular) e indirectamente vía resistencia a insulina y produciendo efectos procoagulantes sobre las plaquetas (12).

Todas las citocinas que forman parte de la familia de las gp130 se unen a receptores de la superficie celular y a receptores solubles, el receptor humano de la IL-6 (IL-6R) es una glicoproteína de membrana tipo I de 80kDa que se une a la IL-6 con baja afinidad. Este receptor exhibe un patrón de expresión altamente definido y en gran medida confinado a ciertos tipos celulares como los monocitos/macrófagos, algunos leucocitos y los hepatocitos (5).



El IL-6R no posee un dominio intracelular de transducción de señales; por lo tanto, la unión de la IL-6 con su receptor no promueve la activación celular; ello indica que el solo hecho de que una célula posea un receptor de superficie para IL-6 no es suficiente para inducir una respuesta activadora (5).

El IL-6R también puede encontrarse en forma soluble (sIL-6R), producto del rompimiento proteolítico que conduce a su liberación de la membrana celular o por medio de una ensambladura alternativa en su gen. Este receptor soluble es capaz de fijar la IL-6 circulante y contribuye junto con IL-6R a la activación celular (5,28). Mientras que en la mayoría de los casos los receptores solubles compiten con las proteínas unidas a la membrana por la unión con el ligando, el IL-6R funciona como un agonista (5).

Para que se genere dicha activación celular: la IL-6 debe unirse primero a IL-6R en la superficie celular o a sIL-6R, luego este complejo se asocia a otra glicoproteína de la superficie celular la gp130 que se encarga de la transducción de señales y para que pueda tener lugar el fenómeno de transducción de señales, el complejo IL-6/IL-6R/gp130 debe unirse a otro complejo IL-6/IL-6R/gp130 (5,11).

A diferencia de la expresión restringida de IL-6R, la gp130 tiene una distribución mucho más amplia y se expresa en la mayoría de los tipos celulares. Esta capacidad que posee la IL-6 de inducir efectos activadores en otras células que no tienen un IL-6R de membrana celular sino por medio de la unión de un complejo IL-6/sIL-6R/gp130 se conoce como “transseñalamiento” o “transactivación” (5,11).

El transseñalamiento de la IL-6 le confiere la capacidad de desencadenar respuestas en una amplia variedad de células que de otra forma permanecerían sin respuesta a la IL-6 misma. Esto es evidente en los sitios de inflamación donde las células estromales residentes exhiben un fenotipo predominantemente gp130+IL-6R- 8 (5).

Diferentes estudios han demostrado que sIL-6R se encuentra implicado en las actividades de migración, activación y apoptosis de los leucocitos. Se ha



encontrado además una forma soluble de gp130 (sgp130) que previene la señalización efectuada por la gp130 unida a la membrana. Esta sgp130 inhibe solamente los efectos de la IL-6 mediados por sIL-6R, pero no por los transmitidos vía su receptor de membrana (IL-6R) (5,28).

La transducción de señales que tiene lugar luego de la estimulación de gp130 debido a la interacción de IL-6 con su receptor puede ocurrir por medio de dos vías principales (5):

1.- La primera involucra a varios miembros de la familia de proteínas tirosina-quinasa Jak particularmente a Jak1, Jak2 y tirosina-quinasa 2 (TYK2). La activación de estas quinasas conduce a la fosforilación y activación de dos miembros de la familia STAT de factores de transcripción, entre ellos STAT3 y en menor cantidad STAT1. La fosforilación de las proteínas STAT promueve su dimerización, que lleva a su translocación hacia el núcleo celular donde se unen a los elementos de respuesta tipo-2 de la IL-6 e inducen la expresión de los diferentes genes “diana” por medio del factor nuclear (NF)-IL-6, recientemente renombrado como CCAAT/ proteína de unión al potenciador. Una vez que tiene lugar la estimulación celular se produce rápidamente una familia de inhibidores inducidos por citocinas llamados supresores de la señalización de citocinas (SOCS, por la sigla en inglés de suppressors of cytokine signalling), cuya función predominante es bloquear la generación de la señal STAT de un receptor de citocinas. Los genes que codifican las proteínas SOCS son objetivos directos de las proteínas STAT; por lo tanto las cascadas JakSTAT controlan su propia señalización mediante una retroalimentación inhibitoria. Aunque existen ocho proteínas SOCS, la SOCS3 es particularmente importante puesto que es inducida por STAT y actúa por medio de su unión al residuo fosforilado Y757 del dominio citoplasmático de la gp130, regulando así la cantidad y calidad de la actividad de STAT generado por IL-6R y mediado por gp130. Se ha demostrado que en ausencia de SOCS3 se induce una respuesta antiinflamatoria idéntica a la de receptor de la IL-10 (IL-10R) (5).

En conjunto, estos datos sugieren que la activación de STAT3 por gp130 puede generar señales de STAT3 cualitativamente distintas dependientes del estado

de SOCS3 en la célula: puede ser antiinflamatorio, como por ejemplo con IL-10R, o pro-antiinflamatorio (5).

2.- Por otra parte, la segunda vía de señalización que se activa luego de la interacción de IL-6 con su receptor involucra a la pequeña guanosina trifosfatasa RAS (GTPasa RAS) y a la cascada, corriente abajo, de las proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAP quinasas) (5,29).

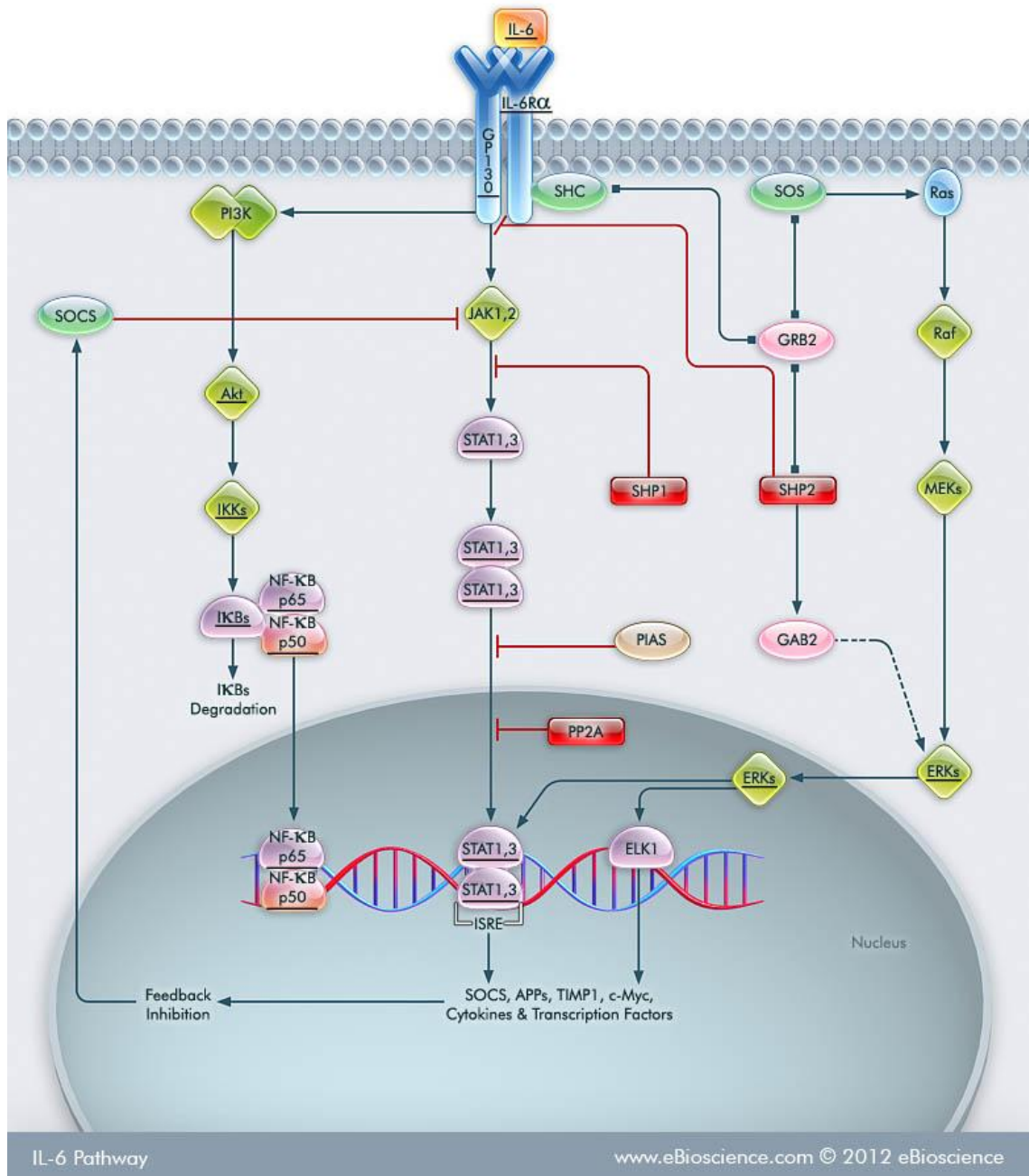


FIGURA 1.3.2.- Vía de la IL-6 (29)



1.3.1. RELACIÓN ENTRE IL-6, PCR y FR

La IL-6 es una de las principales inductoras de la síntesis de proteínas de fase aguda sobretodo de fibrinógeno, siendo un determinante primario de la producción hepática de Proteína C Reactiva (PCR) (4,5,11,12,13). La PCR interactúa con las células endoteliales y estimula la producción de IL-6 y endotelina-1. La IL-6 está implicada en la patogénesis y curso clínico de la enfermedad vascular aterosclerótica, se une a su receptor soluble (sIL-6R) formando el complejo IL-6/sIL-6R, el cual estimula el reclutamiento de leucocitos y promueve la respuesta inflamatoria de la célula endotelial (14).

Además, el PCR activa los osteoclastos en presencia de su receptor soluble (sIL-6R), por estas razones se considera que la superproducción de IL-6 está involucrada con la aparición del Factor Reumatoide (FR), la elevación de los niveles de proteínas de la fase aguda, la hipergammaglobulinemia, la trombosis y la destrucción de las articulaciones en pacientes con Artritis Reumatoide (AR) (13).

1.4. REACTANTES DE FASE AGUDA

Se denomina Reactantes de Fase Aguda al grupo de proteínas heterogéneas, sintetizadas a nivel hepático, cuya característica fundamental es su liberación rápida a nivel sistémico, en presencia de inflamación y de necrosis tisular, y en respuesta al estímulo de citocinas (25,30).

La función principal de los reactantes de fase aguda es regular la inflamación, poseen la capacidad para neutralizar al agente inflamatorio; limitar la progresión de la acción tisular por su acción depuradora de los desechos celulares y productos tóxicos; activan el proceso de reparación y además muchos ejercen acción inmunomoduladora (30).

Para confirmar si existe un incremento de actividad inflamatoria se determina los reactantes de fase aguda, en especial la PCR (25,30), sin que nos proporcionen una información detallada del tipo de inflamación o de las células implicadas. Estas pruebas no son invariablemente positivas durante la inflamación y sin embargo su negatividad no excluye la posibilidad de una



enfermedad activa. Al mismo tiempo, son de escasa utilidad diagnóstica, ya que pueden ser positivas en una gran variedad de trastornos asociados a inflamación (neoplasias malignas, infecciones, traumatismo y necrosis tisulares) (30).

1.4.1. DESENCADENAMIENTO DE LA RESPUESTA DE FASE AGUDA

La respuesta de fase aguda se ve estimulada por la liberación de citocinas, entre las que destacan: IL-1, IL-6 y el TNF. Estas citocinas son liberadas por monocitos y macrófagos en el lugar donde se sitúa el foco inflamatorio o infeccioso, y debido a sus acciones paracrinas este aumento inicial va a provocar un incremento sistémico. El aumento de citocinas circulantes provoca la estimulación de la respuesta de fase aguda en el hígado. En el mecanismo de estimulación hepática para la producción de proteínas de fase aguda se pueden apreciar tres variantes fundamentales según el tipo de citocina implicada (31):

- ❖ La IL-6, se une a su receptor específico provocando la fosforilación del factor de transcripción, que se trasloca hacia el núcleo donde media para que se produzca la transcripción de los genes codificadores de proteínas de fase aguda (31).
- ❖ La IL-1 y el TNF- α se unen a sus respectivos receptores y causan la degradación del inhibidor del factor de transcripción permitiendo así la producción de este factor y la activación subsecuente de los genes de fase aguda en el núcleo de la célula (31).
- ❖ A su vez la IL-6 y TNF- α estimulan la liberación de la hormona Adrenocorticotropica (ACTH), incrementando de esta forma la liberación de glucocorticoides por parte de las glándulas adrenales. Los glucocorticoides ejercen una doble función contradictoria y todavía no conocida con exactitud ya que por una parte, incrementan el efecto estimulante de las citocinas sobre el hígado, y a su vez, estabilizan a los monocitos inhibiendo así la liberación de citocinas proinflamatorias (31).



1.4.2. PROTEÍNA C REACTIVA

Desde su descubrimiento la PCR ha sido utilizada como un marcador sistémico de inflamación y daño de tejidos (16). A pesar de su baja especificidad diagnóstica, es el marcador inflamatorio con más ventajas en la clínica, tales como su disponibilidad, reproducibilidad y fiabilidad (14).

En condiciones fisiológicas es una molécula muy estable, altamente resistente a la proteólisis. Es sintetizada predominantemente por los hepatocitos en respuesta a la IL-6 y otras citocinas (16).

Aparentemente se elimina del plasma y se cataboliza por los hepatocitos. Su vida media en el plasma es alrededor de 19 horas, es la misma en todos los individuos independientemente de la presencia de enfermedad o de la concentración circulante de PCR (16).

El incremento de concentración de esta proteína se produce después de unas horas de desarrollarse la inflamación pudiendo alcanzar niveles de 300 mg/l en 12 -24 horas (32). Una vez el estímulo desaparece, sus niveles disminuyen rápidamente a su estado basal, con una vida media de unas 18 horas; sin embargo, permanece elevada en procesos inflamatorios crónicos como la AR, tuberculosis pulmonar o neoplasias extensas (14).

La función de la PCR es reconocer en el plasma la presencia de productos potencialmente tóxicos liberados por los tejidos lesionados, unirse a ellos y eliminarlos o facilitar su depuración. También es capaz de opsonizar bacterias facilitando su fagocitosis, incrementar la actividad quimiotáctica y fagocítica de neutrófilos y macrófagos, incrementar la actividad de las células NK y la actividad tumoricida de los macrófagos e inactivar el factor activador de plaquetas (PAF) (30). La principal función in vivo de la PCR es la activación del sistema del complemento por la vía clásica luego de interactuar con algunos de sus ligandos biológicos (fosforilcolina, fosfolípidos, fibronectina, cromatina y pequeñas ribonucleoproteínas) (14,30,33). La PCR estimula la síntesis de citocinas antiinflamatorias por los macrófagos. El proceso infeccioso provoca



un complejo grupo de respuestas que tienen la función de adaptar al organismo a la infección y desarrollar mecanismos de defensa humoral y celular (30).

Otros efectos de la PCR semejan algunas propiedades de la fracción cristalizante de las inmunoglobulinas. Esta proteína es capaz de unir complejos inmunes y facilitar la depuración de detritus solubles y partículas apoptóticas, al ser reconocida por los receptores para la Fracción constante de la Inmunoglobulina G (IgG) sobre los macrófagos activados (33).

La PCR tiene la capacidad tanto de opsonizar células apoptóticas como de desacoplar las proteínas del complejo de ataque a la membrana dependiente del complemento. Esto permite una mayor permanencia de las células apoptóticas antes de ser eliminadas, aunque facilitando su captación por fagocitos. Así la PCR juega un papel preponderante en limitar la activación de respuestas de inmunidad adaptativa (33).

Anteriormente los métodos para la determinación de PCR se basaban en la capacidad del suero para precipitar el polisacárido o fracción C (reacción de Quellung), posteriormente, se utilizaron ensayos semicuantitativos de aglutinación en látex, pero después de la caracterización bioquímica de la molécula se desarrollaron anticuerpos monoclonales específicos que facilitaron la aparición de métodos cuantitativos inmunológicos más sensibles para su determinación (34).

Actualmente se determina la PCR mediante técnicas como: aglutinación (prueba con látex) cualitativa o semicuantitativa, turbidimetría, nefelometría, inmunodifusión radial (IDR), ELISA, métodos fluorométricos (35). Los métodos usuales para la determinación de las concentraciones de PCR son menos precisos cuando éstas son menores de 1 mg/dl, así que el uso de métodos de alta sensibilidad, PCR ultrasensible, son de gran utilidad para distinguir los niveles basales de PCR de niveles mayores que se presentan durante la inflamación aguda o incrementos moderados durante la inflamación crónica y en la evaluación del riesgo cardio-vascular (14).



1.5. FACTOR REUMATOIDE

La producción del FR se encuentra regulada por múltiples factores que no están completamente esclarecidos como: factores ambientales, genéticos, hormonales, modificadores metabólicos de la IgG antigénica, especies reactivas del oxígeno, nitrógeno, citocinas proinflamatorias e inmunizaciones recientes (17,18).

Dado que entre un 5-10% de las personas sanas puede presentar FR en suero, se piensa que puede tener una función fisiológica. Una posibilidad es que el desarrollo del FR en suero facilite la formación de grandes inmunocomplejos que puedan ser fácilmente eliminados de la sangre y eviten enfermedades por depósitos e inmunocomplejos. Esta hipótesis se ha confirmado in vitro al inducirse la síntesis de FR policlonal de isotipo IgM en células B de donantes sanos estimuladas con activadores inespecíficos, como lipopolisacáridos (LPS), proteína A estafilocócica o virus de Epstein Barr. En todos estos casos los estímulos utilizados se relacionan con agentes infecciosos, por esta razón se piensa que la función del FR también estaría relacionada con el desarrollo de la respuesta específica a infecciones. La presencia de FR facilita enormemente la función de las células B como células presentadoras de antígeno a los linfocitos CD4. Las células B que expresan en su membrana inmunoglobulinas con especificidad FR pueden capturar complejos inmunes IgG que se hayan unido a sus antígenos específicos. Una vez que los complejos inmunes se han unido a los receptores de membrana de las células B con especificidad FR, los internalizan y procesan los antígenos, que posteriormente serán presentados a las células T como epítopos en el contexto de las moléculas de histocompatibilidad de clase II. Sin embargo, en pacientes con enfermedades autoinmunes especialmente en pacientes con AR se objetiva una producción de FR oligoclonal de isotipo IgM, IgG o IgA (36).

La presencia de FR es uno de los criterios diagnósticos de AR, pero no es específico pudiendo aparecer en otras circunstancias (37):

- Personas sanas: 5-10% (10-20% en mayores de 65 años, su frecuencia aumenta con la edad).



- Familiares de pacientes con AR.
- Enfermedades reumáticas y autoinmunes (17,18):
 - AR: 70-90%.
 - Síndrome de Sjögren (SS): 75-95% (a títulos altos).
 - Crioglobulinemia mixta: 40-100% (a títulos altos).
 - Enfermedad mixta del tejido conectivo: 50-60%.
 - Lupus eritematoso sistémico: 15-35%.
 - Dermatopolimiositis: 5-10%.
- Enfermedades infecciosas (bacterianas, víricas y parasitarias).
- Enfermedades inflamatorias crónicas: hepatopatía crónica, sarcoidosis, bronquitis crónica.
- Neoplasias (37)

La técnica más usada en clínica para su determinación es la Aglutinación del Látex, si el suero tiene anticuerpos que reconocen los fragmentos Fc, habrá aglutinación visible de las partículas de látex. Esta técnica detecta fundamentalmente FR de clase IgM, ya que es una inmunoglobulina pentavalente y eficiente como aglutinante. Otras técnicas utilizadas son los enzimoimmunoensayos, nefelometría y turbidimetría son los mejores por su mayor sensibilidad y especificidad, además de que pueden detectar los diferentes isotipos (IgM, IgG, IgA e IgE) de las inmunoglobulinas. (38, 39)

1.6. ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Una de las propiedades fundamentales del sistema inmune es el reconocimiento entre los antígenos propios y no propios (15,16). Los linfocitos maduros funcionalmente competentes son capaces de reconocer y responder a antígenos extraños, pero no pueden reconocer y/o responder a antígenos propios (7).

Una enfermedad autoinmune se da cuando se pierde esta auto tolerancia y se caracteriza por la acción de los efectores inmunológicos hacia componentes de la propia biología corporal en ausencia de una infección activa u otra causa específica (7,8,9,10). En este caso, el sistema inmunitario se convierte en el agresor mediante autoanticuerpos y ataca a partes del cuerpo en lugar de



protegerlo. Existe una respuesta inmune exagerada contra sustancias y tejidos que normalmente están presentes en el cuerpo (8,9).

Aún no se han dilucidado cuáles son las causas que provocan la pérdida de la tolerancia a los autoantígenos, aunque se ha evidenciado la influencia de factores genéticos, ambientales e inmunológicos (40).

La presencia de autoanticuerpos no es indicadora de enfermedad autoinmune, pudiéndose encontrar autoanticuerpos a títulos bajos en individuos sanos como parte de un hecho fisiológico sin que ello signifique la presencia de esta patología (7,8).

Las enfermedades autoinmunes afectan entre el 5 y 7% de la población mundial, con una amplia gama de manifestaciones clínicas, desde crónicas leves hasta muy severas que llevan a la muerte (41).

1.7. TRATAMIENTO

El tratamiento convencional de la autoinmunidad incluye tratamientos que suprimen la respuesta inmune general y por tanto no son específicos favoreciendo procesos infecciosos además de otras complicaciones (42,43). El tratamiento ideal debería suprimir selectivamente a las células involucradas sin causar un daño general al sistema inmune (42).

Las opciones de tratamiento incluyen medicamentos como: analgésicos y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), glucocorticoides, fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad y agentes biológicos (44).

Los AINEs inhiben la actividad tanto de la ciclooxigenasa-1 (COX-1) como a la ciclooxigenasa-2 (COX-2) y por lo tanto la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos, la inhibición de la COX-2 es la que en parte conlleva a la acción antiinflamatoria, analgésica y antipirética, están recomendados por periodos limitados de tiempo, se debe evaluar los acontecimientos adversos digestivos, renales y cardiovasculares (45,46,47,48).

Los glucocorticoides tienen capacidad antiinflamatoria e inmunosupresora, principalmente mediante la inhibición de la expresión de los genes de IL-2 y



otros mediadores, constituyen el tratamiento más importante y efectivo para los brotes agudos de la enfermedad, en tratamientos de mantenimiento a largo plazo presentan una elevada toxicidad (45, 47).

Los fármacos Antirreumáticos Modificadores de Enfermedad (FARME) provocan una inmunosupresión selectiva y controlada (45,49), su función fundamental es inhibir el proceso de inflamación que provoca la enfermedad, se realiza por diferentes vías (49):

1. Fármacos citotóxicos (azatioprina, ciclofosfamida, clorambucil, metotrexate) provocan la muerte celular e impiden la proliferación de forma selectiva y controlada (49).
2. Fármacos inmunosupresores (ciclosporina, leflunomida, tacrolimus) inhiben la proliferación y regulan una adecuada función de linfocitos T (49).
3. Fármacos Biológicos (adalimumab, etanercept, infliximab, rituximab, tocilizumab, anakinra) son inhibidores selectivos de una molécula pro-inflamatoria o de su receptor, deteniendo el proceso inflamatorio que perpetua la enfermedad y sus procesos (49).

No obstante, fármacos como los glucocorticoides, metotrexate, azatioprina, entre otros, provocan el desarrollo de efectos adversos y toxicidad, en especial mayor susceptibilidad al desarrollo de infecciones graves, aumento en el número de neoplasias a largo plazo y potencial teratogenia entre los principales efectos deletéreos (50).

En los últimos años y gracias a la biotecnología, han aparecido nuevas moléculas como los anticuerpos monoclonales que se dirigen contra blancos específicos y pueden selectivamente bloquear o reducir la respuesta inmune afectando a linfocitos T y B, además de diversas moléculas como TNF o complemento (42).

La inhibición de la IL-6 es una nueva diana terapéutica que ha demostrado mejorar significativamente los signos y síntomas de la enfermedad e



incrementar las tasas de remisión en un amplio perfil de pacientes (51). Debido a que el receptor específico de IL-6 está presente de manera restringida solo en ciertos tipos celulares y a que la interacción de la forma soluble de este receptor con la gp130 es la encargada de inducir una respuesta activadora en una amplia variedad de células, un objetivo promisorio para la manipulación terapéutica de las funciones proinflamatorias de esta citocina es el desarrollo de anticuerpos monoclonales contra el IL-6R, esta terapia puede inhibir de manera efectiva las diversas acciones de la IL-6 por medio del bloqueo del receptor unido a la membrana, así como el bloqueo de la forma soluble existente en los diversos fluidos biológicos (5). En la actualidad se dispone para el uso clínico de un anticuerpo monoclonal con estas características de acción Tocilizumab (TCZ) que indica una reducción muy rápida y potente de la respuesta de fase aguda (4,5).

El TCZ es el primer fármaco biológico que inhibe la IL-6, una opción en los pacientes que han presentado un fracaso terapéutico con fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad u otros fármacos biológicos. La frecuencia de administración mensual lo convierte en una opción atractiva para pacientes y médicos (52).

El programa global de investigación clínica de Tocilizumab en pacientes con AR incluye estudios realizados en 2007 cuyos datos indican que TCZ es bien tolerado y generalmente la proporción de pacientes que experimentan acontecimientos adversos es similar a la de pacientes tratados ya sea con placebo o con un comparador activo. El perfil de seguridad de TCZ es similar administrado como monoterapia o en combinación con otros fármacos antirreumáticos no biológicos modificadores de la enfermedad (6). Por todo ello, los estudios realizados hasta la fecha apoyan el uso del TCZ en los pacientes con AR en los que se documente valores elevados de IL-6 (52).



CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la concentración de IL-6, PCR y FR de pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes.

2.2. HIPÓTESIS

Los valores séricos de IL-6, PCR y FR, de pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes se encuentran elevados.

2.3. METODOLOGÍA

2.3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Estudio descriptivo, prospectivo con corte transversal.

2.3.2. POBLACIÓN

La población estuvo constituida por pacientes adultos diagnosticados de patologías autoinmunes atendidos por la Dra. María del Carmen Ochoa en el Hospital “José Carrasco Arteaga” de la Ciudad de Cuenca.

2.3.3. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes diagnosticados con Artritis Reumatoide de tipo Autoinmune.

2.3.4. TAMAÑO DE LA MUESTRA Y MUESTREO

El tamaño de la muestra fue por conveniencia conformada por 50 pacientes, se obtuvieron muestras entre los meses de junio y julio de 2013, el muestreo fue de tipo no probabilístico.



2.3.5. ÁREA DE ESTUDIO

Hospital “José Carrasco Arteaga” y Laboratorio Clínico “CytoLab”.

2.3.6. PROCEDIMIENTOS

- Presentación de solicitud para el acceso a pacientes dirigida a la Dirección Técnica de Investigación y Docencia del Hospital “José Carrasco Arteaga” y a la Dra. María del Carmen Ochoa. (Anexo 7)
- Aprobación de las solicitudes presentadas. (Anexo 7)
- Información a los pacientes sobre el estudio a realizarse, lectura del consentimiento informado (Anexo 1) y autorización del mismo.
- Registro de datos del paciente en una Ficha de recolección de datos (Anexo 2).

2.3.7. TRANSPORTE Y MANEJO DE MUESTRAS

Toma de la muestra de sangre:

- a) Bajo normas de asepsia y antisepsia por punción venosa, se extrajo 10 ml de sangre en un tubo Vacutainer con sistema al vacío sin anticoagulante.
- b) Una vez obtenidas las muestras, éstas se transportaron inmediatamente a temperatura ambiente al Laboratorio Clínico “CytoLab”.
- c) Para el fraccionamiento se procedió a centrifugar a 3000 rpm durante 7 minutos para recoger el suero.
- d) Se separó el suero en dos tubos Vacutainer de 3 ml en alícuotas de 1 ml aproximadamente.
- e) Las alícuotas de suero de 1 ml fueron conservadas a -20 °C hasta su análisis.
- f) El primer tubo se utilizó para la determinación de IL-6 y el segundo para la determinación de PCR y FR.



2.4. TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE IL-6, PCR Y FR.

Para la determinación de IL-6 sérica, se empleó el método DAsource IL-6-EASIA que es un Inmunoensayo Enzimático de Sensibilidad Amplificada de fase sólida que se realiza en placas de microtitulación. El ensayo utiliza anticuerpos monoclonales (MAb) dirigidos contra distintos epítopes de IL-6. Calibradores y muestras reaccionan con el anticuerpo monoclonal de captura (MAb 1) recubierto en el pocillo de microtitulación y con un anticuerpo monoclonal (MAb 2) marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP). Después de un período de incubación que permite la formación de un sándwich: recubierto de MAb 1 - IL-6 humana - MAb 2 - HRP, la placa de microtitulación se lava para eliminar la enzima anticuerpo marcado no unido. La unión enzima-anticuerpo marcado se mide a través de una reacción cromogénica. Se añade la solución cromogénica (TMB) y se incuba. La reacción se detiene con la adición de solución de parada y entonces la placa de microtitulación se lee a la longitud de onda adecuada (450 nm o 490 nm). La cantidad de sustrato retenido se determina colorimétricamente mediante la medición de la absorbancia, que es proporcional a la concentración de IL-6. Se traza una curva de calibración y la concentración de IL-6 en las muestras se determina por interpolación a partir de la curva de calibración. El uso del lector de EASIA (linealidad hasta 3 unidades de OD) y un método de reducción de datos sofisticados (datos policromáticos reducción) resultan en una alta sensibilidad en rangos bajos y en un extenso rango de calibración. Los valores referenciales para esta determinación se consideran normales de 0-50pg/ml, según la técnica empleada (53). (Anexo 3)

Para la determinación de PCR sérico se utilizó el método de PCR -Turbilátex que es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de proteína C- reactiva (PCR) en suero o plasma humano. Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-PCR humana son aglutinadas por PCR presente en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de PCR de la muestra, y por comparación con un calibrador de PCR de concentración conocida se puede determinar el contenido de PCR en la muestra ensayada (32). (Anexo 4)



Su valor de referencia se considera normal hasta 6mg/L (32).

Para la determinación de FR sérico se empleó el método de FR-Turbilátex aplicable en suero o plasma humano cuyo fundamento consiste en que las partículas de látex recubiertas con gammaglobulina humana, son aglutinadas por FR presentes en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de FR de la muestra, y por comparación con un calibrador de FR de concentración conocida se puede determinar el contenido de FR en la muestra ensayada (54). (Anexo 5)

Su valor de referencia se considera normal hasta 20 UI/mL (54).

2.5. MANEJO ESTADÍSTICO DE DATOS

Como instrumento se utilizó un formulario de recolección de datos (Anexo 2). Se elaboró una base de datos (Anexo 6) creada para este fin en Microsoft Excel 2010 y el análisis estadístico de datos se efectuó con el programa SPSS V 15.0, en función del tipo de variable se emplearon tablas o gráficos para su interpretación.



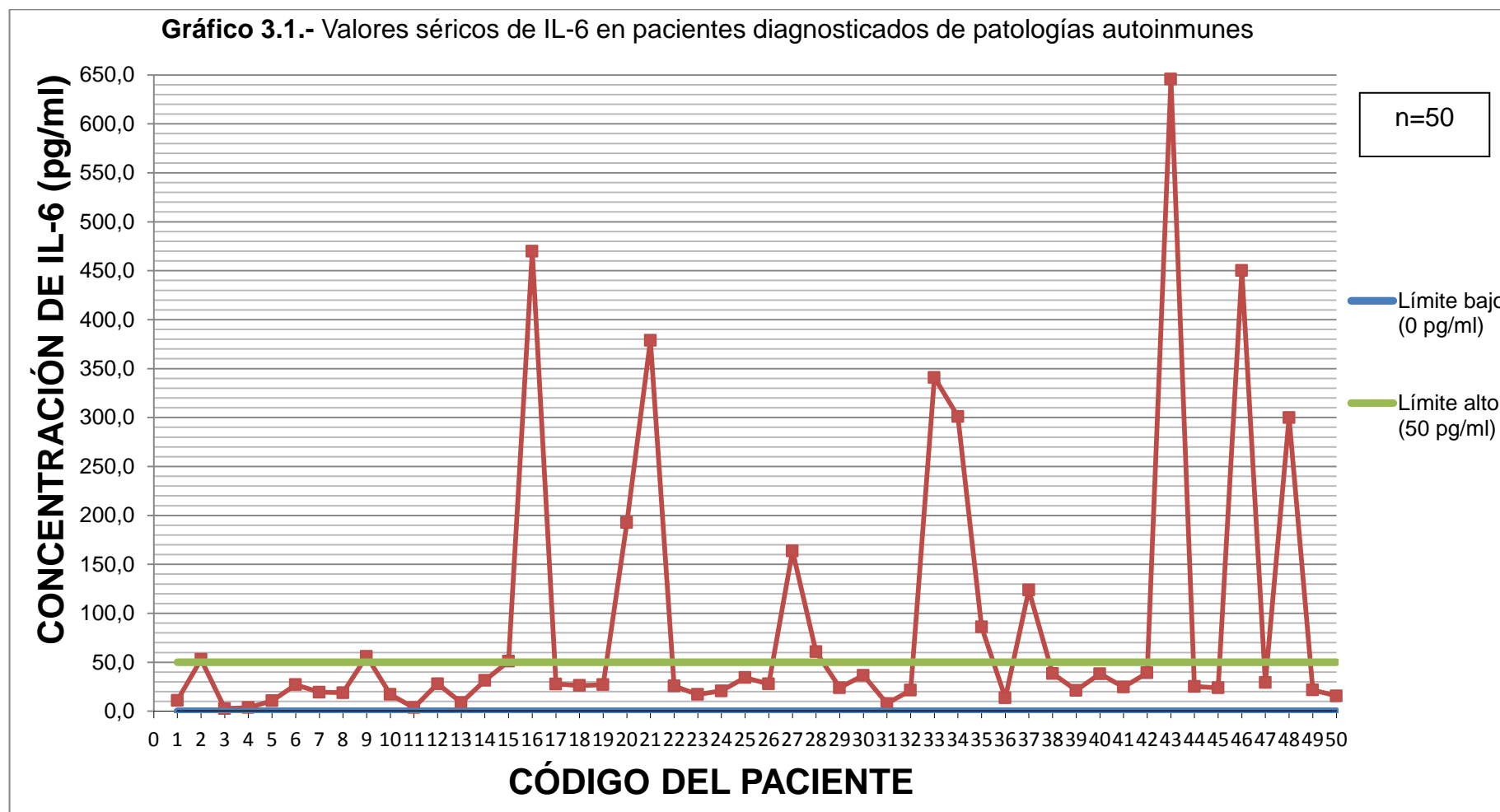
CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 3.1.- Características de los 50 pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes

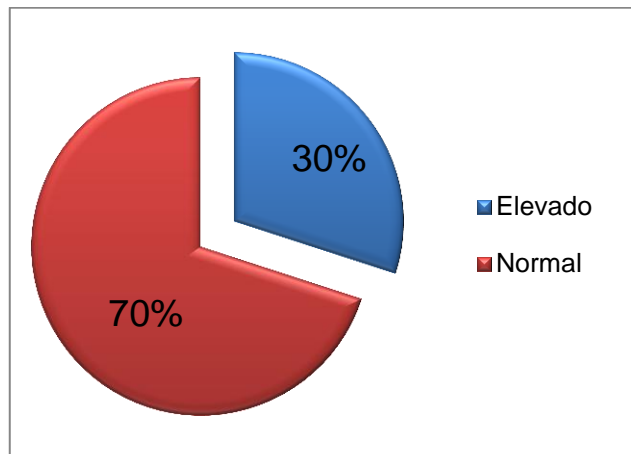
EDAD (AÑOS)	RANGOS			MÍNIMA	MÁXIMA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MEDIA		
	20-40			20	82	15.69	53.52		
	41-61								
	62-82								
GÉNERO				FRECUENCIA		PORCENTAJE			
	FEMENINO			34		68%			
	MASCULINO			16		32%			
INSTRUCCIÓN				FRECUENCIA		PORCENTAJE			
	NINGUNA			1		2%			
	PRIMARIA			14		28%			
	SECUNDARIA			20		40%			
	SUPERIOR			15		30%			
ENFERMEDAD AUTOINMUNE	*CÓDIGO DE LA ENFERMEDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE	*CÓDIGO DE LA ENFERMEDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE	*CÓDIGO DE LA ENFERMEDAD	FRECUENCIA	PORCENTAJE
	1	1	2%	8	4	8%	15	1	2%
	2	1	2%	9	3	6%	16	1	2%
	3	1	2%	10	8	16%	17	1	2%
	4	1	2%	11	3	6%	18	1	2%
	5	2	4%	12	1	2%	19	1	2%
	6	1	2%	13	14	28%	20	1	2%
	7	1	2%	14	2	4%	21	1	2%

*1.-Amiloidosis. 2.-Artritis Serodefinida. 3.-Artritis Gotosa Crónica. 4.-Dermopoliomiositis. 5.-Enfermedad Autoinmune No Definida. 6.-Enfermedad Autoinmune Tiroide. 7.-Enfermedad Hepática Autoinmune. 8.- Esclerosis Sistémica Progresiva. 9.-Espondilitis Anquilosante. 10.-Lupus Eritematoso Sistémico. 11.- Psoriasis. 12.-Sarcoidosis. 13.-Síndrome de Sjögren. 14.-Still del Adulto. 15.-Vasculitis Autoinmune. 16.- Esclerosis Sistémica Progresiva, Síndrome Antifosfolípídico. 17.-Síndrome de Sjögren, Lupus Eritematoso Sistémico. 18.-Síndrome de Sjögren, Probable Síndrome Antifosfolípídico. 19.-Síndrome de Sjögren, Artritis Seronegativa. 20.-Síndrome de Sjögren, Anemia Hemolítica Autoinmune, Síndrome Antifosfolípídico. 21.-Síndrome De Sjögren, Síndrome Antifosfolípídico, Psoriasis, Rosácea.



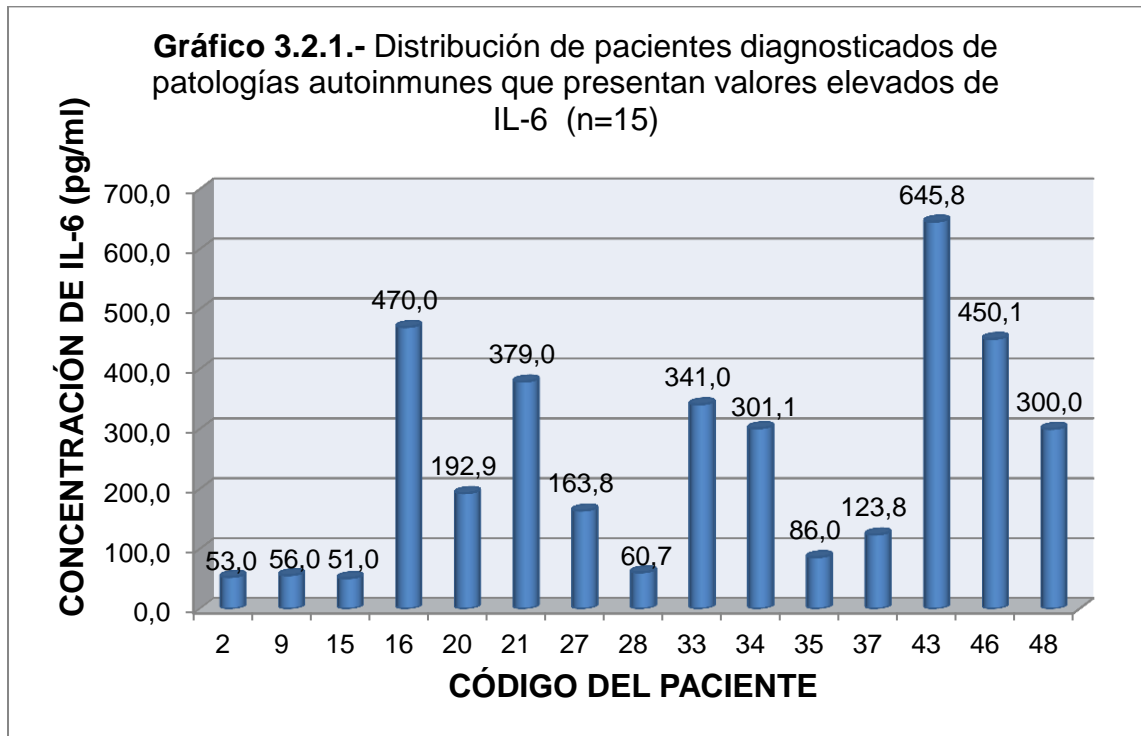
Al analizar las 50 muestras de pacientes con patologías autoinmunes, el valor mínimo es 2.7 pg/ml, el valor máximo es 645.8 pg/ml, y el valor promedio es 88.9 pg/ml.

Gráfico 3.2.- Frecuencia Relativa de valores de IL-6 en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes

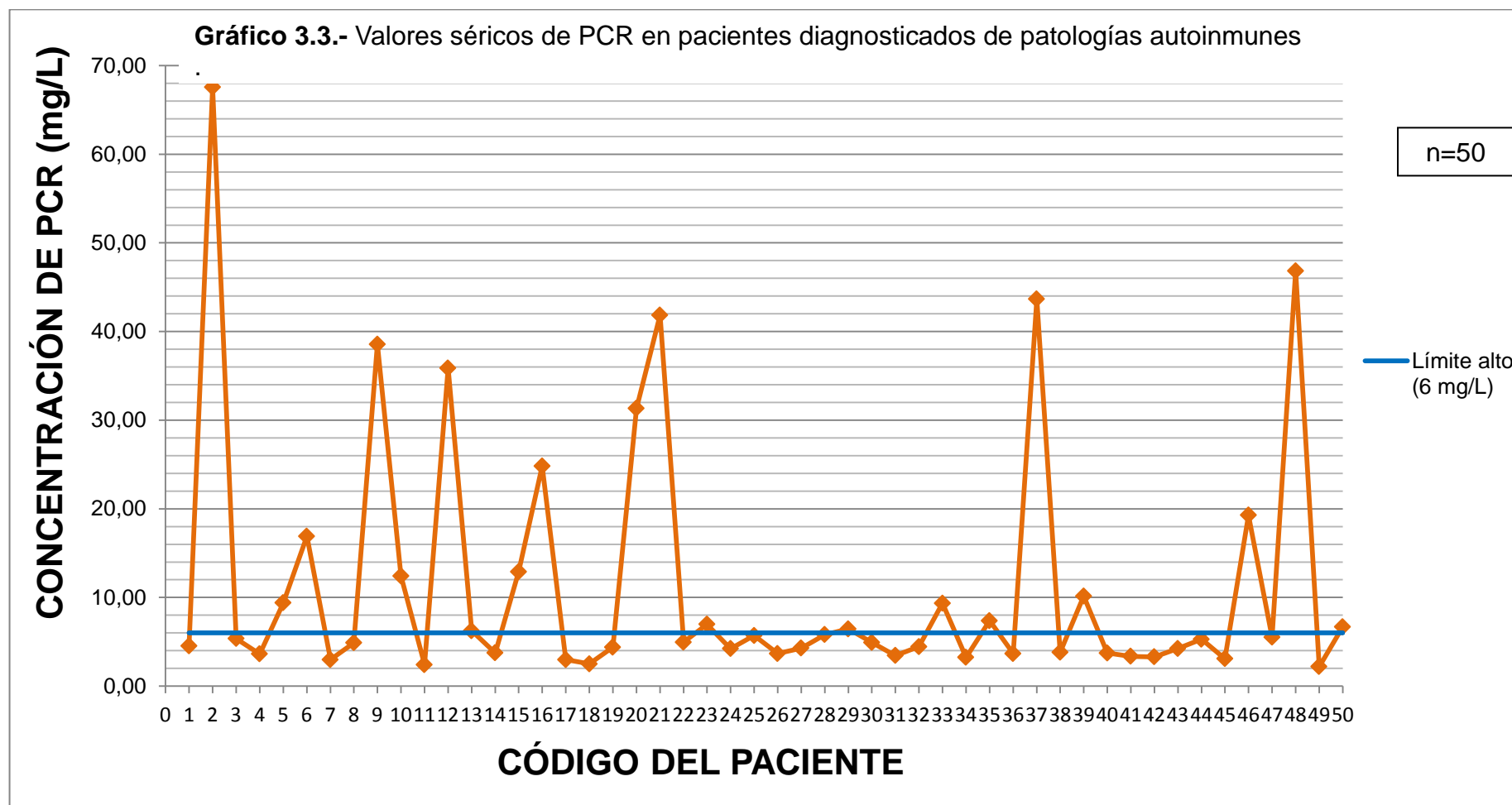


De los 50 pacientes analizados, el 70% (que corresponde a 35 pacientes) tienen valores de IL-6 dentro del rango de referencia (0-50 pg/ml), mientras que el 30% (que corresponde a 15 pacientes) tienen valores mayores al rango de referencia.

García, Saavedra y cols. y Acosta describen que la IL-6 se encuentra elevada en enfermedades autoinmunes provocando efectos perjudiciales tanto a nivel local como sistémico en las personas que las padecen (3,5,6), esto se comprobó en un 30% de la población estudiada. El remanente de la población (70%) presentó valores dentro del rango de referencia pudiendo deberse al tratamiento que reciben.

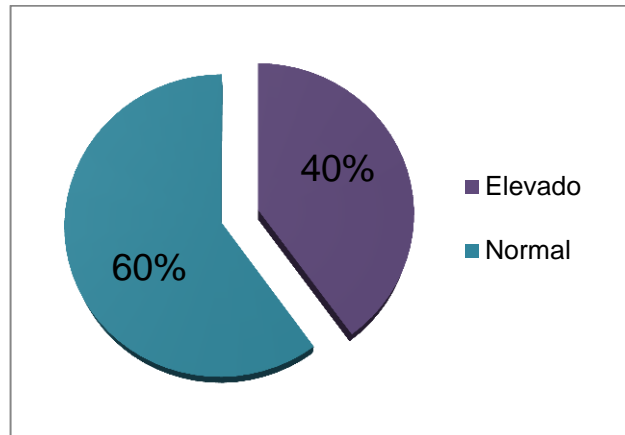


En los pacientes que presentan valores elevados de IL-6 el valor mínimo es 51.0 pg/ml, el valor máximo es 645.8 pg/ml, y la media es 244.9 pg/ml.



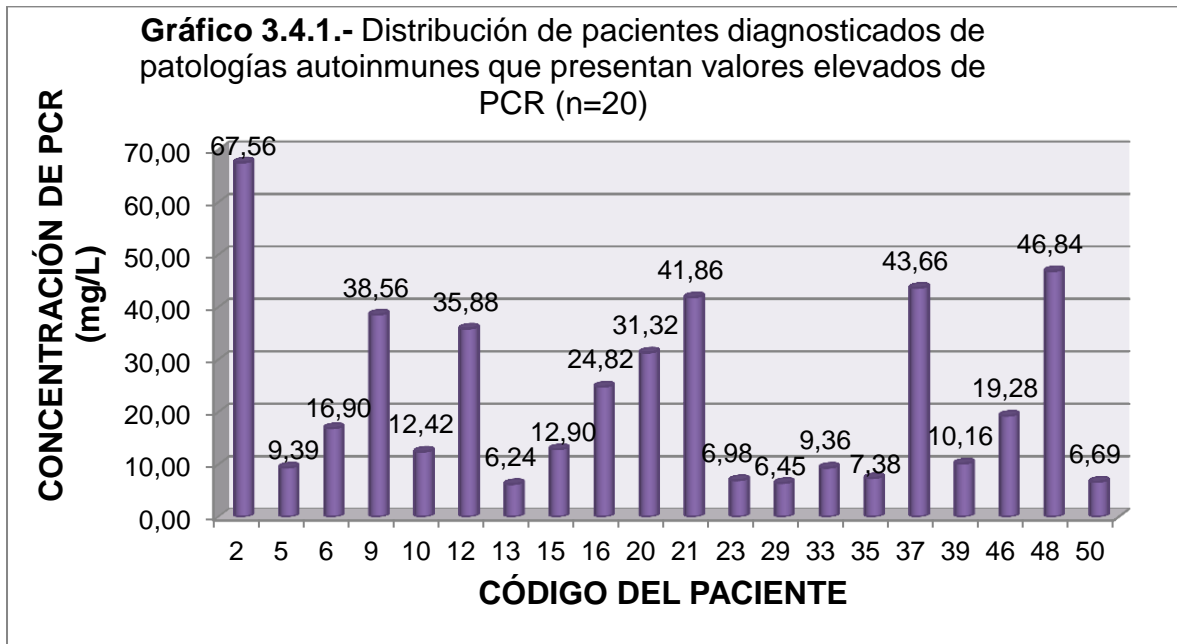
Al analizar las 50 muestras de pacientes con patologías autoinmunes, el valor mínimo es 2.19 mg/L, el valor máximo es 67.56 mg/L, y la valor promedio es 11.50 mg/L.

Gráfico 3.4.- Frecuencia Relativa de valores de PCR en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes

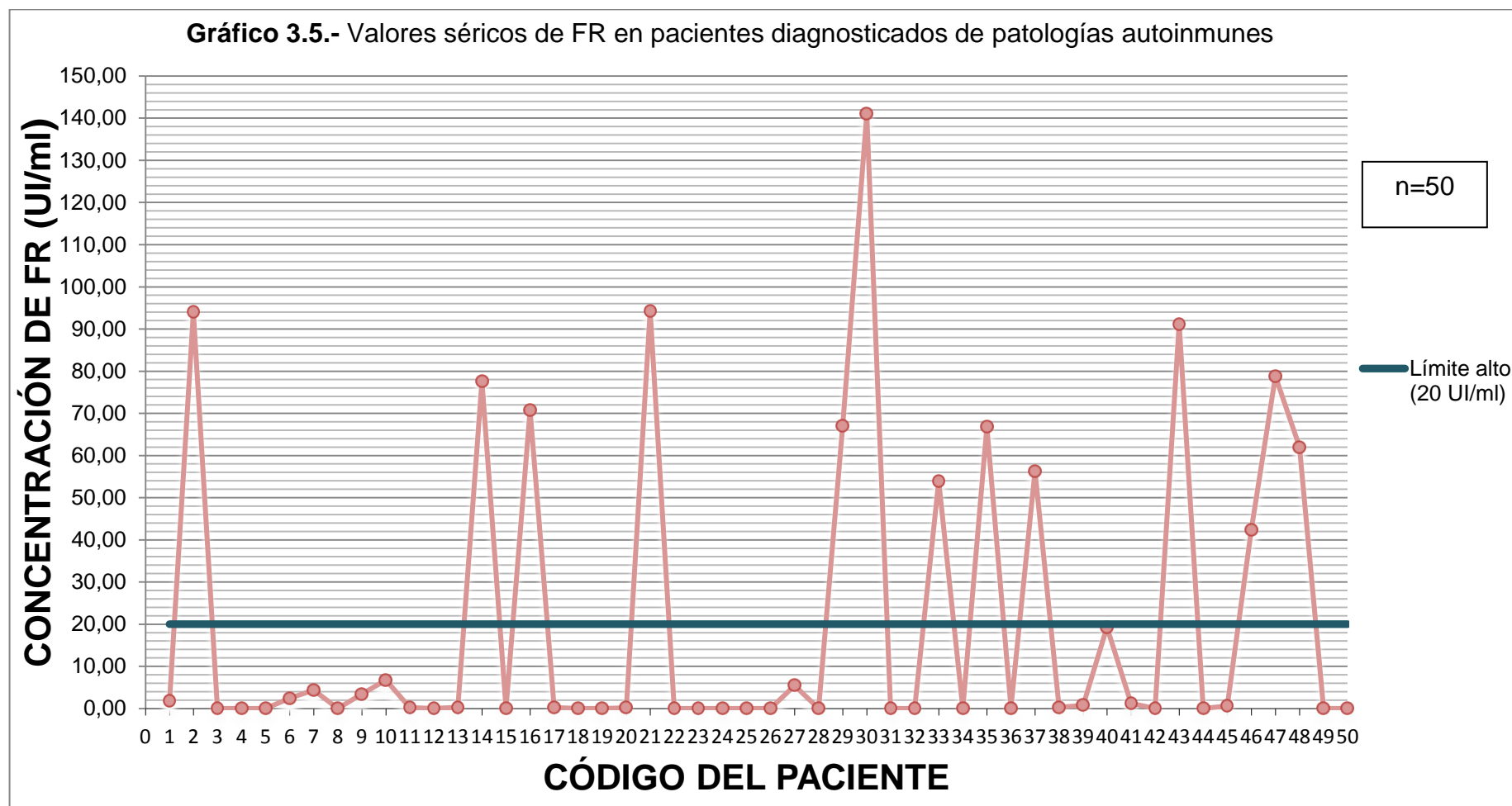


De los 50 pacientes analizados, el 60% (que corresponde a 30 pacientes) tienen valores de PCR dentro del rango de referencia (≤ 6 mg/L), mientras que el 40% (que corresponde a 20 pacientes) tienen valores mayores al rango de referencia.

Según Mingo, Heres y cols. la PCR se incrementa rápida y significativamente en respuesta a una variedad de condiciones inflamatorias o infecciosas (15,16), comprobándose este hecho en un 40% de la población estudiada. El remanente de la población (60%) presentó valores dentro del rango de referencia pudiendo deberse al tratamiento que reciben.

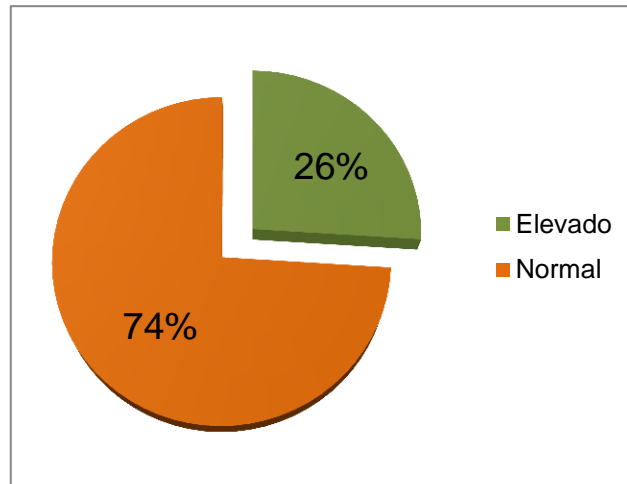


En los pacientes que presentan valores elevados de PCR el valor mínimo es 6.24 mg/L, el valor máximo es 67,56 mg/L, y la media es 22.73 mg/L.



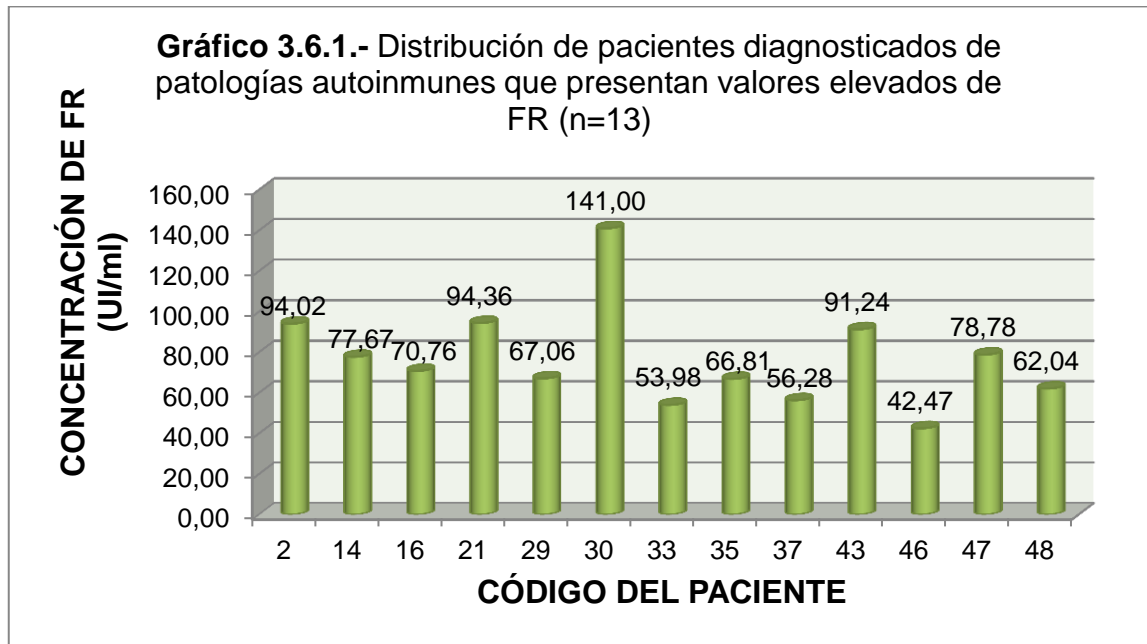
Al analizar las 50 muestras de pacientes con patologías autoinmunes, el valor mínimo es 0.01 UI/ml, el valor máximo es 141.00 UI/ml y el valor promedio es 20.89 UI/ml.

Gráfico 3.6.- Frecuencia Relativa de valores de FR en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes



De los 50 pacientes analizados, el 74% (que corresponde a 37 pacientes) tienen valores de FR dentro del rango de referencia (≤ 20 UI/ml), mientras que el 26% (que corresponde a 13 pacientes) tienen valores mayores al rango de referencia.

Suárez y cols., Beckman, Mallebrera y cols. mencionan que el FR puede estar elevado en varias condiciones entre ellas enfermedades reumáticas y autoinmunes (17,18,37) este hecho se comprobó en el 26% de la población estudiada. El remanente de la población (74%) presentó valores dentro del rango de referencia pudiendo deberse al tratamiento que reciben.



En los pacientes que presentan valores elevados de FR el valor mínimo es 42.47 UI/ml, el valor máximo es 141.00 UI/ml, y la media es 76.65 UI/ml.

**Tabla 3.2.-** Correlación entre los valores de IL-6, PCR y FR

		PCR		Total	
		Elevado (f)	Normal (f)		
IL-6	Elevado (f)	11	4	15	*p=0,002
	Normal (f)	9	26	35	
Total		20	30	50	
		FR		Total	
		Elevado (f)	Normal (f)		
IL-6	Elevado (f)	9	6	15	*p=0,000
	Normal (f)	4	31	35	
Total		13	37	50	
		FR		Total	
		Elevado (f)	Normal (f)		
PCR	Elevado (f)	9	11	20	*p=0,012
	Normal (f)	4	26	30	
Total		13	37	50	

*p: Calculado con chi-cuadrado de Pearson con un Intervalo de confianza del 95%.

Se observa que existe relación estadísticamente significativa entre los valores de IL-6 y PCR; IL-6 y FR; PCR y FR en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes ($p < 0,05$).

Álvarez, Saavedra y cols. entre otros indican que la IL-6 es un determinante primario de la producción de PCR (4,11,5,12,13) y a su vez la PCR estimula la producción de IL-6 y consideran que la superproducción de IL-6 está involucrada con la elevación de FR (13), al comparar estadísticamente los valores de IL-6, PCR y FR en este estudio se verificó la correlación entre: IL-6 y PCR ($p = 0,002$), IL-6 y FR ($p = 0,000$), PCR y FR ($p = 0,012$).

Tabla 3.3.- Correlación entre los valores de IL-6, PCR, FR y el Género en pacientes diagnosticados de enfermedades autoinmunes (n=50)

		GENERO		Total	
		Femenino (f)	Masculino (f)		
IL-6	Elevado (f)	11	4	15	*p=0,597
	Normal (f)	23	12	35	
	Total	34	16	50	
PCR	Elevado (f)	12	8	20	*p=0,322
	Normal (f)	22	8	30	
	Total	34	16	50	
FR	Elevado (f)	9	4	13	*p=0,912
	Normal (f)	25	12	37	
	Total	34	16	50	

*p: Calculado con chi-cuadrado de Pearson con un Intervalo de confianza del 95%.

Se observa que no existe relación estadísticamente significativa entre los valores de IL-6, PCR, FR y el género en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes ($p > 0,05$).

Tabla 3.4.- Correlación entre los valores de IL-6, PCR, FR y la Edad en pacientes diagnosticados de enfermedades autoinmunes (n=50)

		EDAD			Total	
		20-40 Años (f)	41-61 Años (f)	62-82 Años (f)		
IL-6	Elevado (f)	0	8	7	15	*p=0,712
	Normal (f)	11	15	9	35	
Total		11	23	16	50	
PCR	Elevado (f)	2	9	9	20	*p=0,196
	Normal (f)	9	14	7	30	
Total		11	23	16	50	
FR	Elevado (f)	0	7	6	13	*p=0,558
	Normal (f)	11	16	10	37	
Total		11	23	16	50	

*p: Calculado con chi-cuadrado de Pearson con un Intervalo de confianza del 95%.

Se observa que no existe relación estadísticamente significativa entre los valores de IL-6 PCR, FR y la edad en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes ($p > 0,05$).

Tabla 3.5.- Correlación entre los valores de IL-6, PCR, FR y la Instrucción en pacientes diagnosticados de enfermedades autoinmunes (n=50)

		INSTRUCCIÓN				Total	
		NINGUNA (f)	PRIMARIA (f)	SECUNDARIA (f)	SUPERIOR (f)		
IL-6	Elevado (f)	0	4	7	4	15	*p=0,859
	Normal (f)	1	10	13	11	35	
Total		1	14	20	15	50	
PCR	Elevado (f)	1	4	10	5	20	*p=0,338
	Normal (f)	0	10	10	10	30	
Total		1	14	20	15	50	
FR	Elevado (f)	1	5	4	3	13	*p=0,242
	Normal (f)	0	9	16	12	37	
Total		1	14	20	15	50	

*p: Calculado con chi-cuadrado de Pearson con un Intervalo de confianza del 95%.

Se observa que no existe relación estadísticamente significativa entre los valores de IL-6, PCR, FR e instrucción en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes ($p > 0,05$).

No existen publicaciones que correlacionen IL-6, PCR o FR con género, edad e instrucción. En este estudio no se evidencia relación estadísticamente significativa entre estas variables ($p > 0,05$).

Tabla 3.6.- Frecuencia Absoluta y Relativa de administración de medicamento biológico en pacientes diagnosticados de enfermedades autoinmunes (n=50)

	Frecuencia	Porcentaje
NO	39	78%
SI	11	22%
Total	50	100%

De los 50 pacientes analizados se observa que el 78% (que corresponde a 39 pacientes) no reciben medicamento biológico, mientras que el remanente del 22% (que corresponde a 11 pacientes) si lo recibe.

Tabla 3.6.1.- Frecuencia Absoluta y Relativa de Medicamento Biológico empleado (n=11)

	Frecuencia	Porcentaje
ETANERCEPT	1	9,09%
INFLIXIMAB	5	45,46%
RITUXIMAB	4	36,36%
TOCILIZUMAB	1	9,09%
Total	11	100%

De los 11 pacientes que reciben tratamiento con medicamentos biológicos, el medicamento con mayor frecuencia de utilización fue Infiximab mientras que los menos utilizados fueron Etanercept y Tocilizumab.

Tabla 3.7.- Correlación entre los valores de IL-6, PCR, FR y la administración de medicamento biológico durante la toma de la muestra (n=11)

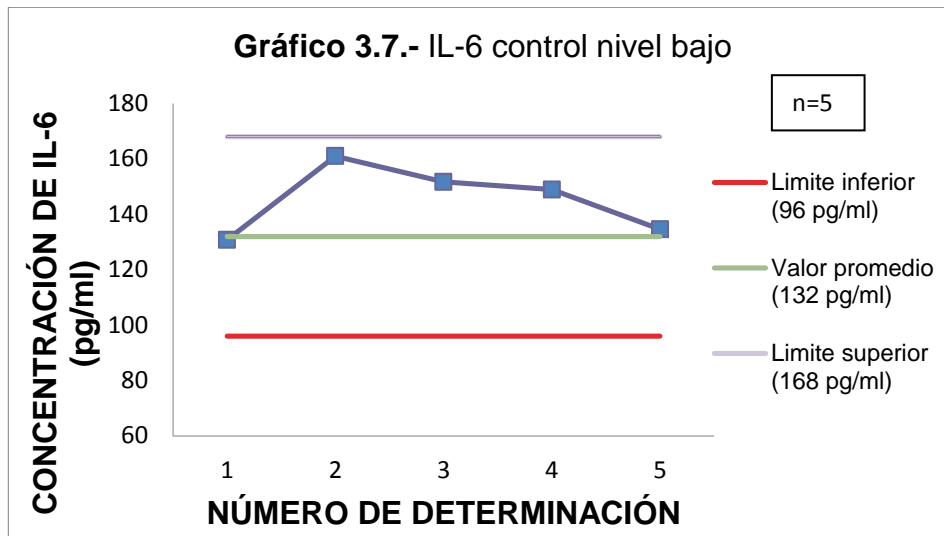
	ADMINISTRACION DURANTE LA TOMA DE MUESTRA		Total	
	NO (f)	SI (f)		
IL-6 Elevado (f)	2	0	2	*p=0,087
Normal (f)	3	6	9	
Total	5	6	11	
PCR Elevado (f)	3	2	5	*p=0,376
Normal (f)	2	4	6	
Total	5	6	11	
FR Elevado (f)	3	0	3	*p=0,026
Normal (f)	2	6	8	
Total	5	6	11	

*p: Calculado con chi-cuadrado de Pearson con un Intervalo de confianza del 95%.

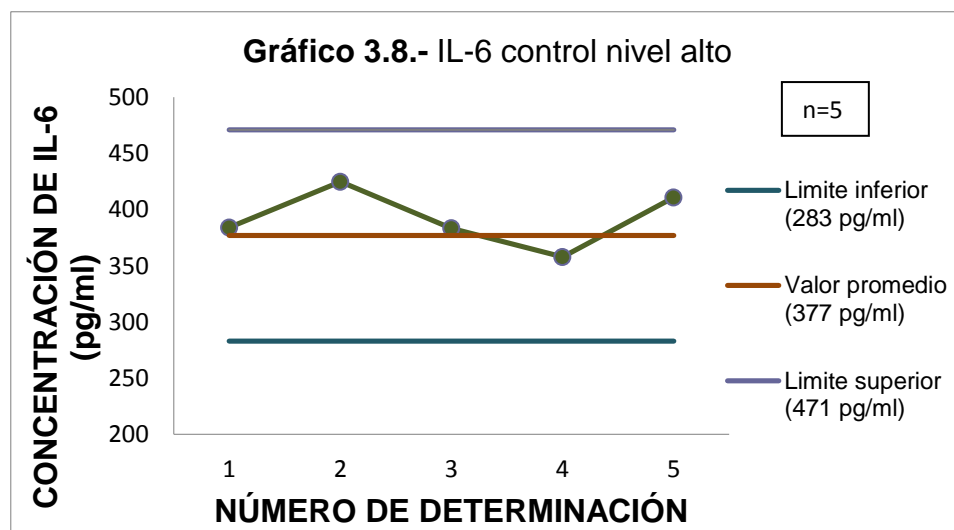
Se observa que no existe relación estadísticamente significativa entre los valores de IL-6, PCR y la administración de medicamento biológico durante la toma de la muestra ($p > 0,05$). Mientras que si existe relación estadísticamente significativa entre los valores de FR y la administración de medicamento biológico durante la toma de la muestra ($p < 0,05$).

Según publicaciones de la Sociedad Española de Reumatología los medicamentos biológicos detienen el proceso inflamatorio que perpetua la enfermedad y sus procesos (49), en este estudio se demostró que la administración del medicamento biológico influye sobre el FR disminuyendo su concentración sérica ($p = 0,026$) pero no se demostró relación entre la administración del medicamento biológico y la IL-6 y PCR. ($p > 0,05$)

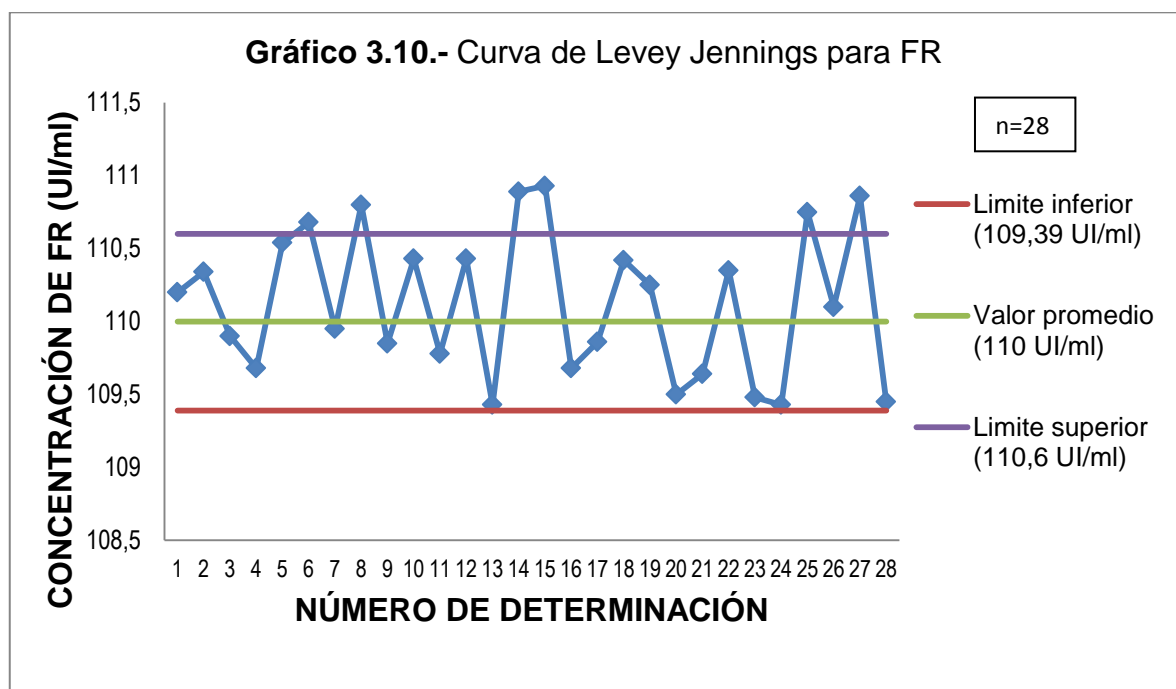
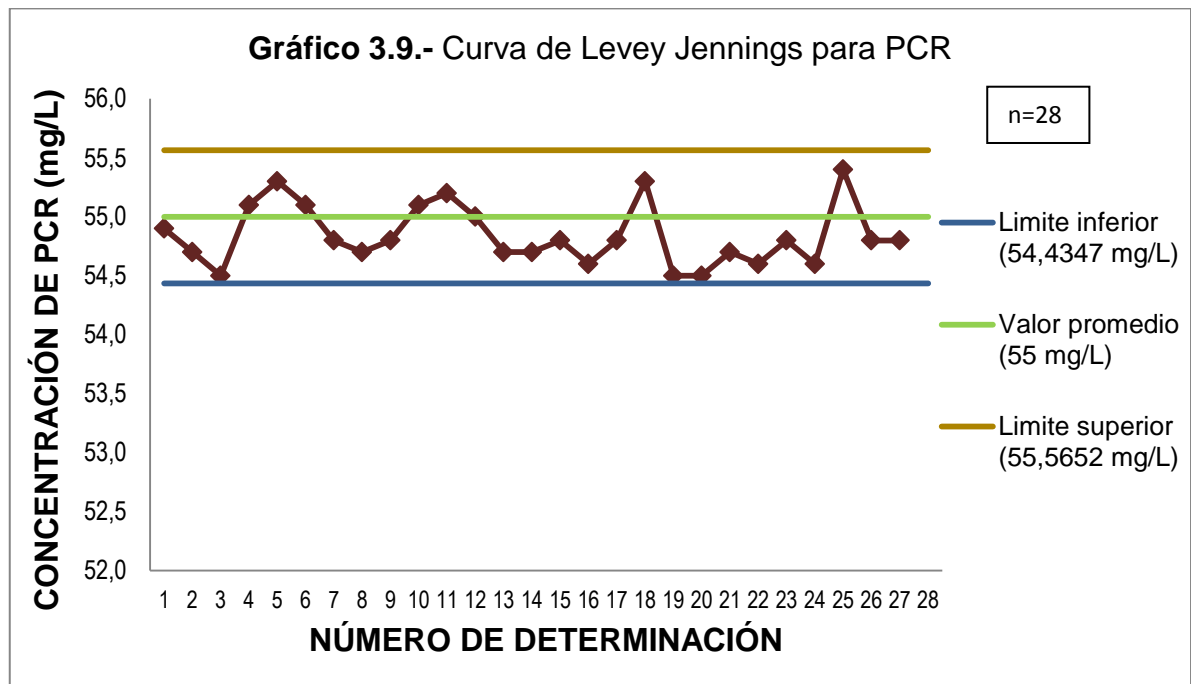
CONTROL DE CALIDAD



La técnica DAsource™ IL-6-EASIA utilizada especifica que el control nivel bajo (lote: 12D3/1) incorporado, deben tener un rango de variación de 132 ± 36 ; como se observa que todos los resultados obtenidos cumplen con esta especificación.



La técnica DAsource™ IL-6-EASIA utilizada especifica que el control nivel alto (lote: 11J5/1) incorporado, deben tener un rango de variación de 377 ± 94 ; como se observa que todos los resultados obtenidos cumplen con esta especificación.



Se empleó como controles de Calidad Liofilizados BIORAD™, observándose que tanto para PCR y FR los resultados se encuentran dentro de las desviaciones permitidas.

**Tabla 3.8.-** Determinación de IL-6, PCR y FR en pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes en 25 muestras por duplicado, seleccionadas al azar

CÓDIGO DEL PACIENTE	IL-6 (pg/ml)			PCR (mg/L)			FR (UI/ml)		
	1 DET.	2 DET.	VALOR PROMEDIO	1 DET.	2 DET.	VALOR PROMEDIO	1 DET.	2 DET.	VALOR PROMEDIO
14	28.8	34.0	31.4	3.54	3.96	3.75	88.64	66.69	77.67
15	51.2	50.8	51.0	12.69	13.10	12.90	0.02	0.01	0.02
17	27.1	28.4	27.8	3.51	2.46	2.99	0.39	0.02	0.21
18	24.5	28.0	26.3	2.91	2.10	2.51	0.01	0.01	0.01
20	187.1	198.6	192.9	32.31	30.32	31.32	0.02	0.35	0.19
21	379.3	378.6	379.0	41.63	42.08	41.86	93.77	94.94	94.36
23	15.7	18.5	17.1	6.80	7.16	6.98	0.01	0.02	0.02
24	19.9	21.7	20.8	4.61	3.83	4.22	0.02	0.02	0.02
26	25.8	30.1	28.0	3.80	3.54	3.67	0.22	0.01	0.12
27	159.9	167.7	163.8	4.11	4.45	4.28	5.35	5.55	5.45
29	25.4	22.6	24.0	6.22	6.67	6.45	64.83	69.28	67.06
30	38.3	34.9	36.6	5.14	4.71	4.93	141.00	141.00	141.00
32	23.6	19.4	21.5	4.54	4.35	4.45	0.01	0.01	0.01
33	357.5	324.4	341.0	9.74	8.97	9.36	54.03	53.92	53.98
35	81.7	90.3	86.0	7.01	7.75	7.38	66.45	67.16	66.81
36	14.8	12.5	13.7	3.74	3.61	3.68	0.01	0.28	0.15
38	40.9	36.2	38.6	3.84	3.76	3.80	0.61	0.01	0.31
39	20.8	21.7	21.3	9.54	10.77	10.16	1.47	0.01	0.74
41	23.1	26.2	24.7	3.25	3.46	3.36	2.40	0.01	1.21
42	36.2	42.2	39.2	3.99	2.60	3.30	0.01	0.01	0.01
44	24.0	26.7	25.4	4.70	5.86	5.28	0.01	0.01	0.01
45	22.2	25.4	23.8	3.85	2.34	3.10	1.22	0.01	0.62
47	28.4	30.1	29.3	5.07	5.95	5.51	76.22	81.34	78.78
48	327.3	272.7	300.0	45.44	48.24	46.84	61.26	62.82	62.04
50	18.5	12.9	15.7	6.18	7.20	6.69	0.01	0.01	0.01
	*r=0,994			*r=0,997			*r=0,993		

*Calculado con t Student para datos relacionados.

Se observa que el coeficiente de correlación (r) en los duplicados de IL-6, PCR y FR, son aproximados a la unidad, comprobándose así la validez y la reproducibilidad de los análisis realizados.



Tabla 3.9.- Determinación de IL-6, PCR y FR en pacientes sanos empleados como Control Negativo

Código del Paciente	Valor Referencial (0-50)	Valor Referencial (≤ 6)	Valor Referencial (≤ 20)
	IL- 6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/ml)
CN1	27.1	4.96	0.55
CN2	25.0	5.76	0.05
CN3	12.5	3.62	0.20
CN4	18.5	4.85	0.01
CN5	21.3	5.32	0.80

Se observa que todos los pacientes sanos empleados como Control Negativo, presentan valores de IL-6, PCR y FR dentro de los valores referenciales.

Se pudo validar las técnicas empleadas mediante varios controles de calidad como:

- Los controles nivel bajo y nivel alto de IL-6 se encontraron dentro de las desviaciones estándar permitidas.
- El control de calidad de PCR y FR se encuentra dentro de los valores de la desviación estándar aceptada.
- Los duplicados del 50% de la población estudiada tienen un índice de correlación aproximado a la unidad demostrando la reproducibilidad de los resultados.
- El Grupo de pacientes sanos empleados como Control Negativo que representan el 10% de la población estudiada presentaron concentraciones de IL-6, PCR y FR dentro de los valores referenciales.



CAPITULO IV

4.1. CONCLUSIONES

El 30% de la población estudiada presenta niveles elevados de IL-6, mientras que en la PCR el 40% y el FR el 26% de los pacientes presentan niveles elevados. Observándose que la PCR tiene el mayor porcentaje de casos elevados en los pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes.

En la determinación de IL-6 se registra valores bastante elevados de hasta casi 13 veces más a su valor referencial máximo (50pg/ml); en el caso de la PCR el valor más alto supera 11 veces más a su valor referencial máximo (6mg/L) y por último en el caso del FR el valor más alto supera 7 veces más a su valor referencial máximo (20UI/ml).

Los datos obtenidos fueron informados tanto a pacientes como a la Dra. María del Carmen Ochoa (Médico Tratante) quien manifestó que se analiza la posibilidad de terapia dirigida en los casos que así lo ameriten.

Apenas el 22% de la población estudiada recibe terapia biológica, sólo un paciente recibe terapia dirigida contra IL-6 lo que indica que en nuestro medio no se considera esta determinación para instaurar el tratamiento.



4.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda a los médicos especialistas en este campo la determinación de IL-6 como una prueba importante que guía el nivel de inflamación y puede indicar la necesidad o no de un tratamiento específico.

Se recomienda la continuación de éste estudio para obtener mayor información en esta área de la salud poco estudiada, realizándolo con mayor número de pacientes y grupos de estudio definidos.



BIBLIOGRAFÍA

1. NAOUM Paulo. "Citocinas e Interleucinas". Academia de Ciencia y Tecnología de Sao José de Rio Preto – SP. 2009. Disponible en: <http://www.ciencianews.com.br/cien-news/citocinas.pdf>. Consultado: 03 de abril de 2013.
2. HERNÁNDEZ-URZÚA Miguel A., Alvarado-Navarro Anabell Centro de Investigación en Inmunología y Dermatología (CIINDE), "Interleucinas e inmunidad innata". Rev. Biomed; 12:272-280. México. 2001. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb011248.pdf> Consultado: 12 de marzo de 2013.
3. GARCIA, Fernando. "Fundamentos de Inmunobiología". Universidad Autónoma de México. 1997. Disponible en: http://books.google.com.ec/books?id=YpP4WeZ2x14C&pg=PA347&lpg=PA347&dq=interleucina&source=bl&ots=xtMVhyh4VS&sig=gM8bAriXO2uvASUQIV0_8FRnhLU&hl=es-419&sa=X&ei=C11kUc_vHpSC9gS8toD4DA&ved=0CDgQ6AEwAzgU#v=onepage&q=interleucina&f=false. Consultado: 04 de abril de 2013.
4. ÁLVAREZ José. "La Interleucina 6 en la fisiopatología de la artritis reumatoide". Reumatol Clin. 2009; 5(1):34-39. España. Disponible en: <http://www.elsevier.es/sites/default/files/elsevier/pdf/273/273v05n01a13132616pdf001.pdf>. Consultado: 04 de marzo de 2013.
5. SAAVEDRA RAMÍREZ Publio., VÁSQUEZ DUQUE Gloria., GONZÁLEZ NARANJO Luis. "Interleucina-6: ¿amiga o enemiga? Bases para comprender su utilidad como objetivo terapéutico". Iatreia Vol. 24 (2): 157-166. Colombia. 2010. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v24n2/v24n2a05.pdf> Consultado: 03 de marzo de 2013.
6. ACOSTA, Ma. Isabel. "Eficacia y Seguridad con Tocilizumab en pacientes con Artritis Reumatoide". Universidad Autónoma de Barcelona. 2010.



- Disponible en: <http://www.recercat.net/bitstream/handle/2072/199203/TR-AcostaColman%20%282%29.pdf?sequence=1>. Consultado: 06 de junio de 2013.
7. MARINOVIC M. María. "BASES DE LA MEDICINA CLINICA". Universidad de Chile. Disponible en: http://www.basesmedicina.cl/inmunologia/904_enferme_autoinmunidad/94_inmunologia_enfermautoinmunidad.pdf Consultado: 02 de abril de 2013.
 8. SANCHEZ, Sergio y col. "El fenómeno de autoinmunidad: enfermedades y antígenos relacionados". México. 2004. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb041517.pdf>. Consultado: 02 de abril de 2013.
 9. EIDAI. "II JORNADAS INTERDISCIPLINARIAS DE AUTOINMUNIDAD" Buenos Aires. 2011. Disponible en: <http://www.fage.org.ar/actividades-cientificas/img-actividades/jornadas-inter-autoinmunidad.pdf>. Consultado: 05 de abril de 2013.
 10. LOPEZ, Marcos. "AUTOINMUNDAD: ¿Qué hay de nuevo en Inmunología?". Hospital Sierrallana. España. 2009. Disponible en: <http://www.hospitalsierrallana.com/uploads/AUTOINMUNDAD.pdf>. Consultado 03 de abril de 2013.
 11. TOUMPANAKIS, Dimitrios y col. "Molecular mechanisms of action of Interleukin-6 (IL-6)". PNEUMON, Núm. 2. Vol. 20. 2007. Disponible en: <http://www.mednet.gr/pneumon/pdf/20-2-4e.pdf>. Consultado: 23 de marzo de 2013.
 12. PADILLA. María. "ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO Y MARCADORES SANGUINEOS ASOCIADOS A ATROSCLEROSIS". Barcelona. 2008. Disponible en: <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/4511/mup1de1.pdf?sequence=1> Consultado: 21 de marzo de 2013.



13. MORERA, Vivian. "EULAR 2004: magma cita de la Reumatología" Centro de Ingeniería genética y Biotecnología. Cuba. 2004. Disponible en: <http://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/BA/2004/21/4/BA002104RP234-249.pdf>. Consultado: 26 de marzo de 2013.
14. GONZÁLEZ NARANJO, Luis Alonso., MOLINA RESTREPO, José Fernando. "Evaluación de la inflamación en el laboratorio". Revista Colombiana de Reumatología Vol. 17. No 1. Bogotá. 2010. ISSN 0121-8123. Disponible en: http://www.scielo.unal.edu.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-81232010000100004&lng=es&nrm=#tab3 Consultado: 02 de junio de 2013.
15. MINGO ALEMANY María. "UTILIDAD DE LA PROTEÍNA C REACTIVA COMO MARCADOR PRONÓSTICO EN NIÑOS CON PATOLOGÍA INFECCIOSA GRAVE". Barcelona. 2010. Disponible en: http://ddd.uab.cat/pub/tesis/2011/hdl_10803_42013/mcma1de1.pdf Consultado: 09 de abril de 2013.
16. HERES ÁLVAREZ Flor. y col. "Proteína C reactiva y enfermedad arterial coronaria". Vol. 17, N° 1, Cuba. 2011. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/car/vol17_1_11/car10111.pdf Consultado: 03 de abril de 2013.
17. SUÁREZ RODRÍGUEZ Bárbara., HERNÁNDEZ MORENO Vicente. "¿ES SIEMPRE UN FACTOR REUMATOIDEO POSITIVO INDICADOR DE ENFERMEDAD REUMÁTICA?". Medicentro Electrón. 2012 jul.-sep.; 16(3). Cuba. Disponible en: <http://www.medicentro.sld.cu/paginas%20de%20acceso/Sumario/ano%202012/v16n3a12/factor.htm> Consultado: 03 de abril de 2013.
18. BECKMAN COULTER. "Factor Reumatoide". Disponible en: <http://www.crbreus.org/pnt/factor%20reumatoide.pdf>. Consultado: 03 de abril de 2013.



19. Sociedad Argentina de Inmunología (SAI). “Dia Internacional de Inmunología”. 2013. Disponible en: <http://m.unr.edu.ar/noticia.php?id=6425> Consultado: 09 de septiembre de 2013.
20. Biblioteca Digital de la Universidad de Chile. “Inmunizaciones”. Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/medinae/cap7/18e1.html Consultado: 09 de septiembre de 2013.
21. ROJAS M, William. “Inmunología”. 13^a Edición. Colombia. Quebecor Word Bogotá S.A. 2004. Disponible en: <http://books.google.com.ec/books?id=EX-zRE9PYkQC&pg=PA145&dq=humoral&hl=es&sa=X&ei=cf2vUb3zFZPK4#v=onepage&q=humoral&f=false> Consultado: 10 de junio de 2013.
22. IÁÑEZ, Enrique. “Curso de Inmunología General: La respuesta inmune humoral específica”. Departamento de Microbiología. Universidad de Granada. España. Disponible en: http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_12.htm. Consultado: 10 de junio de 2013.
23. BRANDAN, Nora y Col. “Respuesta Inmunitaria”. Facultad de Medicina. UNNE. 2007. Disponible en: <http://med.unne.edu.ar/catedras/bioquimica/pdf/inmunitaria.pdf> Consultado: 10 de junio de 2013.
24. COSTELL, Mercedes. “La Respuesta Inmune Humoral”. Disponible en: <http://mural.uv.es/airo/docs/03.inm.pdf>. Consultado: 11 de junio de 2013.
25. SUÁREZ, A. y Col. “Citocinas y Quimiocinas”. Disponible en: <http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/inmunologia/tema09/etexto09.htm> Consultado: 06 de junio de 2013.
26. BARROS DE OLIVEIRA, Caio Marcio, SAKATA, Rioko Kimiko., ISSY,



- Adriana Machado., GEROLA, Luis Roberto. y SALOMÃO, Reynaldo. "Citocinas y Dolor". Revista Brasileira de Anestesiologia. 201. Vol 61: No 2: 137-142. Cátedra de Bioquímica - Facultad de Medicina – U.N.N.E. Disponible en: http://www.scielo.br/pdf/rba/v61n2/es_v61n2a14.pdf Consultado: 06 de junio de 2013.
- 27.** AGUIRRE DE AVALOS M. V., BRANDAN N. "Citoquinas". Universidad Nacional del Nordeste Facultad de Medicina Cátedra de Bioquímica. 2002. Disponible en: <http://www.med.unne.edu.ar/catedras/bioquimica/pdf/citoquinas.pdf> Consultado: 06 de junio de 2013.
- 28.** PABLOS ÁLVAREZ, José Luis. "La interleucina 6 en la fisiopatología de la artritis reumatoide". Reumatol Clin. 2009; 5(1):34-39. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13132616&pident_usuario=0&pcontactid=&pident_revista=273&ty=158&accion=L&origen=reuma%20&web=http://www.reumatologiaclinica.org&lan=es&fichero=273v05n01a13132616pdf001.pdf Consultado: 29 de mayo de 2013.
- 29.** EBIOSCIENCE. San Diego, CA. 2012. Disponible en: <http://www.ebioscience.com/resources/pathways/il-6-pathway.htm> Consultado: 07 de septiembre de 2013
- 30.** MORAO ÁVILA, Fabiola Corina., DAVIS YÁNEZ Carllys Coromoto. "Reactantes de Fase Aguda en el diagnóstico y evolución de las enfermedades infecciosas pediátricas". Hospital Universitario Ruíz y Páez, Servicio de Pediatría. Disponible en: <http://ri.biblioteca.udo.edu.ve/bitstream/123456789/78/1/TESIS-Medicina-DYyMA.pdf> Consultado: 04 de junio de 2013.
- 31.** MARTINEZ, Subiela y Col. "Proteínas de Fase Aguda: Conceptos Básicos y Principales Aplicaciones Clínicas en Medicina Veterinaria". Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. España. 2011. Disponible en: <http://revistas.um.es/analesvet/article/view/16381/15801>. Consultado: 04



de junio de 2013.

- 32.** SPINREACT, S.A./S.A.U. “PCR-turbilátex”. Ctra. Santa Coloma. 2011. Disponible en: <http://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/TURBIDIMETRIA/1107001%20CRP%20.pdf>. Consultado: 04 de junio de 2013.
- 33.** AMEZCUA–GUERRA, Luis M., SPRINGALL DEL VILLAR, Rashidi., BOJALIL PARRA, Rafael. “Proteína C reactiva: aspectos cardiovasculares de una proteína de fase aguda”. Departamento de Inmunología. INCICH. Archivo Cardiología. México. Vol. 77. No 1 México. 2007. ISSN 1405-9940 Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-99402007000100009 Consultado: 02 de junio de 2013.
- 34.** Paz A, Eyo A, Martínez I, Agramunt G, Venta R, Álvarez F.V. “PROTEÍNA C REACTIVA”. BOLETÍN INFORMATIVO. HOSPITAL SAN AGUSTÍN. BIOQUÍMICA. VOL 1. NÚM. 1. ASTURIAS. 2000. Disponible en: <http://s332949449.mialojamiento.es/wp/wp-content/uploads/2008/12/pcr1.pdf> Consultado: 02 de junio de 2013.
- 35.** INFOBIOQUIMICA. “Proteína C Reactiva”. Proyecto SABio. Disponible en: <http://www.infobioquimica.com/wrapper/CDInterpretacion/te/bc/321.htm>. Consultado: 04 de junio de 2013.
- 36.** ALONSO, Alberto. “Monografías SER: Técnicas de Diagnóstico y Tratamiento en Reumatología”. España. Médica Panamericana. 2004. Disponible en: <http://books.google.com.ec/books?id=Oet5wH1B9zgC&pg=PA33&dq=factor+reumatoide&hl=es&sa=X&ei=3Ey6UcGDFoT64AO-04DwBg&ved=0CCwQ6AEwAA#v=onepage&q=factor%20reumatoide&f=false>. Consultado: 07 de junio de 2013.
- 37.** MALLEBRERA, Lidia Tomás., BORJA RUIZ, Mateos., MARTÍNEZ SANTOS, Paula. “Reumatología”. Academia MIR. Disponible en:



http://www.academiamir.com/manual/MANUAL_REUMATOLOGIA.pdf

Consultado: 03 de junio de 2013.

- 38.** ABUMHOR, Patricia. “Interpretación del Laboratorio en Reumatología”. Chile. 2005. Disponible en: <http://www.sochire.cl/bases/r-237-1-1343679473.pdf>. Consultado: 07 de junio de 2013.
- 39.** ROJAS HERNÁNDEZ, Juan Pablo. “El laboratorio en las enfermedades reumáticas autoinmunes”. Universidad Libre Scentia Fons Libertatis. Colombia. Disponible en: http://www.unilibrecali.edu.co/pediatria/images/stories/archivos_pediatria/el_laboratorio_en_las_enfermedades_jprh.pdf Consultado: 03 de junio de 2013.
- 40.** TORRES Lino E., BARBERA Ariana y DOMÍNGUEZ María. “Principales estrategias terapéuticas en el tratamiento de la artritis reumatoide”. Revista CENIC Ciencias Biológicas, Vol. 39, No. 3, Cuba. 2008. Disponible en: <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files> Consultado: 02 de abril de 2013.
- 41.** INFOBIOQUIMICA. “El Laboratorio en las Enfermedades Autoinmunes”. Proyecto SABio. Disponible en: <http://www.infobioquimica.com/wrapper/CDInterpretacion/ac/06.htm> Consultado: 09 de septiembre de 2013.
- 42.** GÓMEZ-ALMAGUER David., “Anticuerpos monoclonales en el tratamiento de enfermedades autoinmunes”. Revista de Hematología Vol. 11, Supl. 1, Abril-Mayo 2010; p. 60-62. México. Disponible en: <http://www.nietoeditores.com.mx/download/hematologia/suplemento/abril-mayo2010/hm-s101-23-anticuerpos-ok.pdf> Consultado: 09 de abril de 2013.
- 43.** OLMOS, Carlos Eduardo. “Enfermedades autoinmunes en pediatría”. Fundacion Cardioinfantil. Bogotá. Disponible en: http://www.scp.com.co/precop/precop_files/modulo_7_vin_4/PrecopVol7N4_1.pdf. Consultado: 06 de junio de 2013.



44. KONFORTE, Danijela y Col. "Enfermedades autoinmunes: Diagnóstico temprano y nuevas estrategias de tratamiento". American Association for Clinical Chemistry. 2013. Disponible en: http://www.clinchem.org/content/suppl/2013/05/09/clinchem.2012.189480.DC1/Nov12_QA_Cxd_Esp.pdf. Consultado: 11 de junio de 2013.
45. BURGOS, Paola. "Drogas utilizadas en Reumatología". Disponible en: <http://escuela.med.puc.cl/publ/apuntesreumatologia/Pdf/DrogasReumatologia.pdf>. Consultado: 12 de junio de 2013.
46. JIMÉNEZ, S y Col. "Tratamiento de las enfermedades autoinmunes sistémicas". Medicine. ISSN 0304-5412, Serie 9, N^o. 30, págs. 1977-1985. 2005 Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1253455>. Consultado: 02 de junio de 2013.
47. GÓMEZ, David y Col. "Tratamiento de Lupus Eritematoso Sistemico". Butlletí d'informació terapeutica Generalitat de Catalunya ISSN 1579-9441. Vol. 23, núm. 5. 2012. Disponible en: http://www20.gencat.cat/docs/canalsalut/Minisite/Medicaments/Professionals/Butlletins/Boletin_Informacion_Terapeutica/Documents/Arxius/BIT_v23_n05e.pdf. Consultado: 30 de mayo de 2013.
48. CAÑAS, Carlos y Col. "Enfermedades Autoinmunes". Carta de la Salud. ISSN 1900-3560, N^o 147. 2008. Disponible en: http://www.valledellili.org/sitiop/images/stories/pdf/CSAgoosto_2008.pdf. Consultado: 30 de mayo de 2013.
49. SOCIEDAD ESPAÑOLA DE REUMATOLOGIA. "Farmacos modificadores de la enfermedad". Enciclopedia SER. Madrid. Disponible en: http://www.ser.es/wiki/index.php/F%C3%A1rmacos_modificadores_de_la_enfermedad. Consultado: 02 de junio de 2013.
50. CAROILI, Ernesto y Col. "Terapias biológicas en las enfermedades autoinmunes sistémicas: volver al futuro". 2012. Disponible en: http://www.farmacologia.hc.edu.uy/index.php?option=com_content&task=



view&id=109&Itemid=62. Consultado: 02 de junio de 2013.

- 51.** FARMANEWS, “Inhibición de la IL-6: Una nueva diana terapéutica en el Tratamiento de la Artritis Reumatoide”. Noticias del sector Farmacéutico FARMANEWS. 2008. Disponible en: http://www.farmanews.com/notas_de_prensa/N1139.html. Consultado: 06 de abril de 2013.
- 52.** MARTINEZ, Melania y Col. “ Inhibidor del receptor de la interleucina 6 en el tratamiento de la artritis reumatoide: seguridad y dosificación del tocilizumab”. 2011. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es/revistas/seminarios-fundacion-esp%C3%B1ola-reumatologia-274/inhibidor-receptor-interleucina-6-tratamiento-artritis-reumatoide-seguridad-90010389-revisiones-2011>. Consultado: 06 de junio de 2013.
- 53.** DIASource ImmunoAssays S.A. . “IL-6 EASIA”. Bélgica. 2011.
- 54.** SPINREACT. S.A./ S.A.U. “FR-Turbilatex” Ctra. Santa Coloma. 2011. Disponible en: <http://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/TURBIDIMETRIA/1107005%20FR%20%20.pdf>. Consultado: 04 de junio de 2013.



ANEXOS

ANEXO 1

UNIVERSIDAD DE CUENCA



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

CONSENTIMIENTO INFORMADO

FECHA: _____

Estimado paciente:

Somos estudiantes egresadas de la escuela de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca

Como parte de los requisitos de graduación llevaremos a cabo un estudio que trata sobre la “DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE INTERLEUCINA 6 (IL-6), PROTEINA C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGIAS AUTOINMUNES”

Cuyo objetivo es: Determinar la concentración de Interleucina 6 (IL-6), PCR y FR de pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes.

Esta investigación es requisito para obtener nuestro título en Bioquímica y Farmacia. Usted ha sido seleccionado para participar en esta investigación la cual consiste en: tomar una muestra de su sangre, en la cual se realizará determinaciones de Interleucina 6 (IL-6), Proteína C Reactiva (PCR) y Factor Reumatoide (FR), y contestar unas cortas preguntas como nombre, domicilio, teléfonos, edad, instrucción, enfermedad autoinmune padecida, tiempo tras detección de la enfermedad y tratamiento actual. El tiempo total que requeriremos de su presencia será de 15 minutos aproximadamente.

Su participación es voluntaria. La información obtenida a través de este estudio será mantenida bajo estricta confidencialidad y su nombre no será



utilizado. Usted tiene el derecho de retirar el consentimiento para la participación en cualquier momento. El estudio no conlleva ningún riesgo ni recibe ningún beneficio, sin embargo si usted lo desea podrá tener acceso al resultado de su análisis. No recibirá compensación por participar.

Yo _____
mayor de edad, identificado con CC. N° _____ autorizo a las estudiantes Mariela Illescas y Eulalia Villa, con estudios en Bioquímica y Farmacia, para la realización del procedimiento antes mencionado, teniendo en cuenta que he sido informado claramente sobre los riesgos de baja probabilidad que se pueden presentar:

- Sangrado.
- Dolor leve en el sitio de punción.
- Desmayo o sensación de mareo.
- Hematoma (acumulación de sangre debajo de la piel)
- Infección (un riesgo leve en cualquier momento que se presente ruptura de la piel)

Al firmar este documento reconozco que lo he leído o que me ha sido leído y explicado y que comprendo perfectamente su contenido. Se me han dado amplias oportunidades de formular preguntas y que todas las preguntas que he formulado han sido respondidas o explicadas en forma satisfactoria. Comprendiendo estas limitaciones, doy mi consentimiento para la realización del procedimiento y firmo a continuación:

Firma del Paciente:

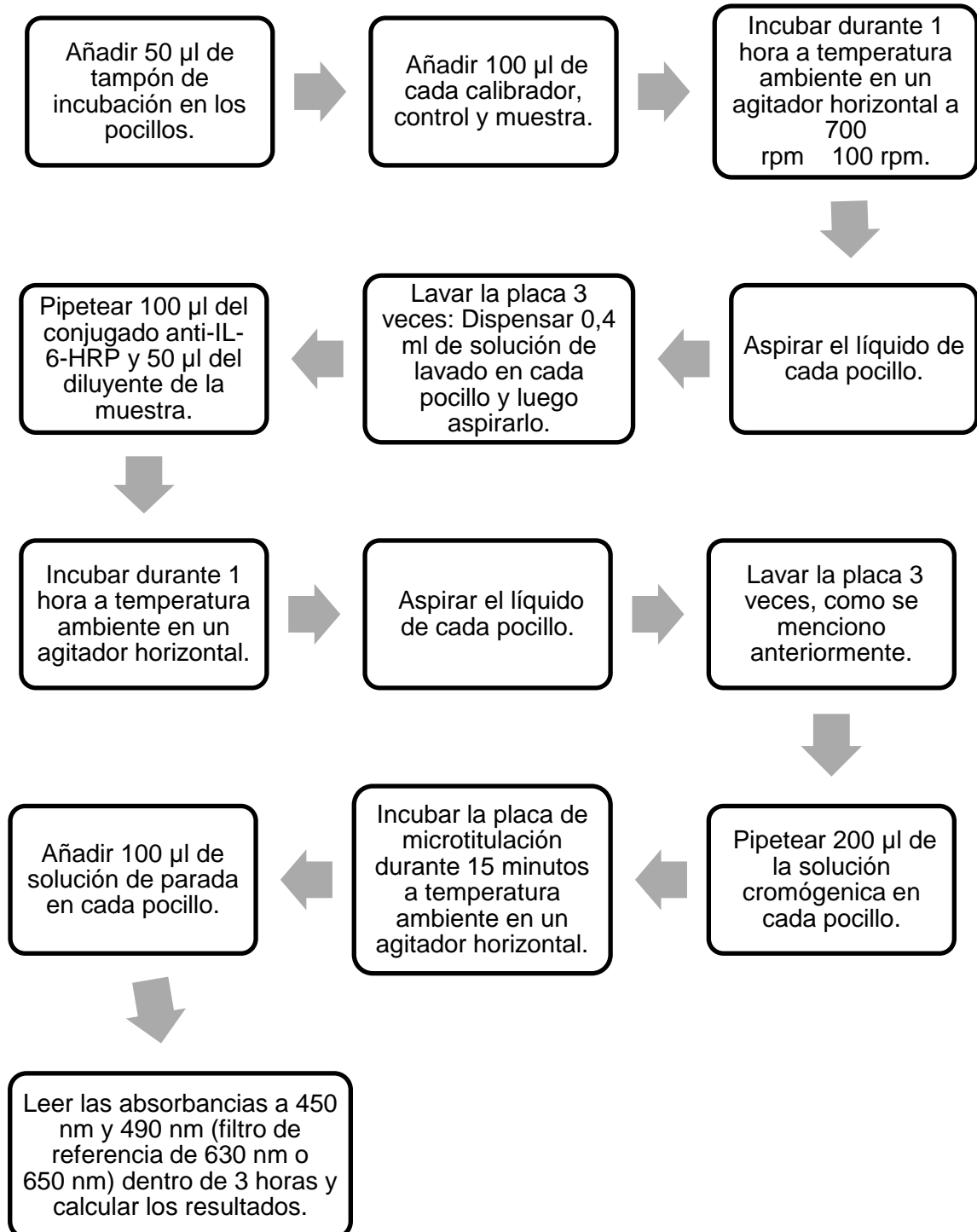
Nombre del Paciente:



ANEXO 2

UNIVERSIDAD DE CUENCA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA		
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS		
DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE INTERLEUCINA 6 (IL-6), PROTEINA C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGÍAS AUTOINMUNES		
Responsables: Mariela Illescas y Eulalia Villa Estudiantes egresadas de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca.		
Hora de la toma de muestra:		Fecha:
Nombre:		
Código del Paciente		
1. DATOS GENERALES		
Edad:	Género:	F M
Instrucción:	Primaria	Secundaria Superior
Domicilio:		
Teléfonos:	Convencional	Celular
2. DATOS SOBRE PADECIMIENTO		
Tipo de enfermedad autoinmune:		Tiempo tras la detección de la enfermedad
Anemia Autoinmune	Esclerosis Sistémica	
Lupus Eritematoso Sistémico	Síndrome de Sjögren	
Otra:		
3. INFORMACIÓN SOBRE TRATAMIENTO		
Medicamentos que toma actualmente para la enfermedad autoinmune		
4. RESULTADOS DE LABORATORIO		
Interleucina 6 sérica		pg/mL
PCR		mg/L
FR		UI/mL
5. OBSERVACIONES: _____ _____ _____		

ANEXO 3

DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE LA DETERMINACION DE IL-6
(DIAsource IL-6-EASIA™)



ANEXO 4

PROTEINA C REACTIVA

EQUIPO DE BIOQUÍMICA Y QUÍMICA AUTOMATIZADO

PARAMETRIZACIÓN

<u>PARAMETROS</u>			
Nombre Abrev	PCR	R1	360
Número	**	R2	90
Nombre	PCR	Volumen muestra	3
Num standard		Blanco R1	
Modo	Tiempo fijo	Blanco mezcla reactivo	
Long onda primaria	546 nm	Rango linealidad	*
Long onda secundaria		Límite linealidad	150 mg/L
Dirección	Aumentar	Límite Substrato	*
Tiempo reacción	1 7	Factor	*
Tiempo incubación		Efecto Prozona	*
Unidades	mg/L	q1	q2
Precisión	0,01	q3	q4
		PC	Abs
<u>CALIBRACION (CAL+BL REACTIVO)</u>			
Tipo curva	Lineal un punto		
Sensibilidad	1		
Replicados	2		
Intervalos (días)	0		
Límite aceptación			
Desviación Estándar			
Respuesta del Blanco			
Error Límite			
Coeficiente correlación	1		



ANEXO 5

FACTOR REUMATOIDE

EQUIPO DE BIOQUÍMICA Y QUÍMICA AUTOMATIZADO

PARAMETRIZACIÓN

<u>PARAMETROS</u>			
Nombre Abrev	FR	R1	300
Número	**	R2	75
Nombre	FR	Volumen muestra	3
Num standard	6	Blanco R1	
Modo	Tiempo fijo	Blanco mezcla reactivo	
Long onda primaria	630 nm	Rango linealidad	*
Long onda secundaria		Límite linealidad	160 UI/mL
Dirección	Aumentar	Límite Substrato	*
Tiempo reacción	1 7	Factor	
Tiempo incubación		Efecto Prozona	*
Unidades	UI/MI	q1	q2
Precisión	0,01	q3	q4
		PC	Abs
<u>CALIBRACION (CAL+BL REACTIVO)</u>			
Tipo curva	Spline		
Sensibilidad	1		
Replicados	2		
Intervalos (días)	0		
Límite aceptación			
Desviación Estándar			
Respuesta del Blanco			
Error Límite			
Coefficiente correlación	1		

**ANEXO 6.-** Tabla de datos y resultados de la determinación de IL-6, PCR y FR de pacientes diagnosticados de patologías autoinmunes (n=50)

CÓDIGO DEL PACIENTE	GÉNERO	EDAD (Años)	INSTRUCCIÓN	ENFERMEDAD AUTOINMUNE	IL-6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	OBSERVACIONES
01	MASCULINO	55	SECUNDARIA	SINDROME DE SJÖGREN, LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO	11.1	4.54	1.86	
02	FEMENINO	61	SUPERIOR	ENFERMEDAD HEPATICA AUTOINMUNE	53.0	67.56	94.02	
03	FEMENINO	44	SECUNDARIA	ANEMIA HEMOLITICA AUTOINMUNE, SINDROME DE SJÖGREN, SINDROME ANTIFOSFOLIPIDICO	2.7	5.36	0.01	
04	FEMENINO	24	SUPERIOR	LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO	3.7	3.63	0.02	
05	FEMENINO	40	SUPERIOR	LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO	10.6	9.39	0.02	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLOGICO: TOCILIZUMAB
06	FEMENINO	65	PRIMARIA	SINDROME DE SJÖGREN	27.1	16.90	2.40	



CÓDIGO DEL PACIENTE	GÉNERO	EDAD (Años)	INSTRUCCIÓN	ENFERMEDAD AUTOINMUNE	IL-6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	OBSERVACIONES
07	MASCULINO	69	SECUNDARIA	DERMOPOLIOMIOSITIS	19.4	2.99	4.38	
08	MASCULINO	53	SUPERIOR	ESPONDILITIS ANQUILOSANTE	18.9	4.88	0.01	
09	MASCULINO	80	SECUNDARIA	ARTRITIS GOTOSA CRONICA	56.0	38.56	3.43	
10	MASCULINO	50	PRIMARIA	ESCLEROSIS SISTEMICA PROGRESIVA	17.1	12.42	6.73	
11	MASCULINO	46	SUPERIOR	ESPONDILITIS ANQUILOSANTE	3.7	2.42	0.22	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO: INFLIXIMAB
12	MASCULINO	64	SECUNDARIA	STILL DEL ADULTO	28.0	35.88	0.01	
13	FEMENINO	55	SECUNDARIA	LUPUS ERYTEMATOSO SISTEMICO	8.8	6.24	0.29	



CÓDIGO DEL PACIENTE	GÉNERO	EDAD (Años)	INSTRUCCIÓN	ENFERMEDAD AUTOINMUNE	IL-6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	OBSERVACIONES
14	FEMENINO	78	PRIMARIA	SINDROME DE SJÖGREN	31.4	3.75	77.67	
15	FEMENINO	63	PRIMARIA	ESCLEROSIS SISTEMICA PROGRESIVA, SINDROME ANTIFOSFOLIPIDICO	51.0	12.90	0.02	
16	FEMENINO	60	SUPERIOR	SINDROME DE SJÖGREN	470.0	24.82	70.76	
17	FEMENINO	71	PRIMARIA	ARTRITIS CERO DEFINIDA	27.8	2.99	0.21	
18	MASCULINO	47	SUPERIOR	SARCOIDOSIS	26.3	2.51	0.01	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO: RITUXIMAB
19	FEMENINO	32	SECUNDARIA	ENFERMEDAD AUTOINMUNE DEFINIDA NO	27.1	4.39	0.02	
20	FEMENINO	56	SECUNDARIA	ESCLEROSIS SISTEMICA PROGRESIVA	192.9	31.32	0.19	



CÓDIGO DEL PACIENTE	GÉNERO	EDAD (Años)	INSTRUCCIÓN	ENFERMEDAD AUTOINMUNE	IL-6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	OBSERVACIONES
21	MASCULINO	58	SECUNDARIA	SINDROME DE SJÖGREN	379.0	41.86	94.36	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO NO EN TOMA DE MUESTRA: RITUXIMAB
22	FEMENINO	77	PRIMARIA	ENFERMEDAD AUTOINMUNE TIROIDE	25.8	4.96	0.01	
23	MASCULINO	56	SECUNDARIA	PSORIASIS	17.1	6.98	0.02	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO: INFLIXIMAB
24	FEMENINO	36	SUPERIOR	LUPUS ERYTEMATOSO SISTÉMICO	20.8	4.22	0.02	
25	MASCULINO	60	SUPERIOR	PSORIASIS	34.4	5.70	0.01	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO: INFLIXIMAB
26	MASCULINO	43	SECUNDARIA	ESPONDILITIS ANQUILOSANTE	28.0	3.67	0.12	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO: INFLIXIMAB
27	FEMENINO	82	PRIMARIA	SINDROME DE SJÖGREN	163.8	4.28	5.45	



CÓDIGO DEL PACIENTE	GÉNERO	EDAD (Años)	INSTRUCCIÓN	ENFERMEDAD AUTOINMUNE	IL-6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	OBSERVACIONES
28	FEMENINO	43	SECUNDARIA	LUPUS ERYTEMATOSO SISTEMICO	60.7	5.81	0.01	
29	MASCULINO	72		SINDROME DE SJÖGREN, ARTRITIS SERONEGATIVA	24.0	6.45	67.06	
30	FEMENINO	43	PRIMARIA	SINDROME DE SJÖGREN	36.6	4.93	141.00	
31	FEMENINO	57	SECUNDARIA	AMILOIDOSIS	7.8	3.45	0.01	
32	FEMENINO	68	SECUNDARIA	SINDROME DE SJÖGREN, PROBABLE SINDROME ANTIFOSFOLIPIDICO	21.5	4.45	0.01	
33	FEMENINO	72	SECUNDARIA	SINDROME DE SJÖGREN	341.0	9.36	53.98	
34	FEMENINO	53	SUPERIOR	STILL DEL ADULTO	301.1	3.24	0.01	



CÓDIGO DEL PACIENTE	GÉNERO	EDAD (Años)	INSTRUCCIÓN	ENFERMEDAD AUTOINMUNE	IL-6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	OBSERVACIONES
35	MASCULINO	47	SECUNDARIA	SINDROME DE SJÖGREN	86.0	7.38	66.81	
36	FEMENINO	35	SECUNDARIA	ENFERMEDAD AUTOINMUNE DEFINIDA NO	13.7	3.68	0.15	
37	FEMENINO	60	SECUNDARIA	SINDROME DE SJÖGREN	123.8	43.66	56.28	
38	FEMENINO	25	SUPERIOR	LUPUS ERYTEMATOSO SISTEMICO	38.6	3.80	0.31	
39	FEMENINO	70	SECUNDARIA	SINDROME DE SJÖGREN	21.3	10.16	0.74	
40	FEMENINO	25	SECUNDARIA	ESCLEROSIS SISTEMICA PROGRESIVA	38.3	3.73	19.28	
41	FEMENINO	32	PRIMARIA	LUPUS ERYTEMATOSO SISTEMICO	24.7	3.36	1.21	



CÓDIGO DEL PACIENTE	GÉNERO	EDAD (Años)	INSTRUCCIÓN	ENFERMEDAD AUTOINMUNE	IL-6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	OBSERVACIONES
42	FEMENINO	48	SUPERIOR	ESCLEROSIS SISTEMICA PROGRESIVA	39.2	3.30	0.01	
43	FEMENINO	68	PRIMARIA	SINDROME DE SJÖGREN	645.8	4.24	91.24	
44	MASCULINO	35	SUPERIOR	PSORIASIS	25.4	5.28	0.01	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO NO EN TOMA DE MUESTRA: INFLIXIMAB
45	FEMENINO	20	PRIMARIA	LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO	23.8	3.10	0.62	
46	FEMENINO	64	SUPERIOR	VASCULITIS AUTOINMUNE	450.1	19.28	42.47	
47	FEMENINO	58	PRIMARIA	SINDROME DE SJÖGREN	29.3	5.51	78.78	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO NO EN TOMA DE MUESTRA: ETANERCEP
48	MASCULINO	63	PRIMARIA	SINDROME DE SJÖGREN	300.0	46.84	62.04	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO NO EN TOMA DE MUESTRA: RITUXIMAB



CÓDIGO DEL PACIENTE	GÉNERO	EDAD (Años)	INSTRUCCIÓN	ENFERMEDAD AUTOINMUNE	IL-6 (pg/ml)	PCR (mg/L)	FR (UI/mL)	OBSERVACIONES
49	FEMENINO	58	PRIMARIA	SINDROME DE SJÖGREN	21.7	2.19	0.01	
50	FEMENINO	35	SUPERIOR	SINDROME DE SJÖGREN, SINDROME ANTIFOSFOLIPIDICO, PSORIASIS, ROSACEA	15.7	6.69	0.01	ADMINISTRACION MEDICAMENTO BIOLÓGICO NO EN TOMA DE MUESTRA: RITUXIMAB



ANEXO 7. SOLICITUDES Y APROBACIONES

Cuenca, 29 de abril de 2013

Yo Dra. María del Carmen Ochoa

CERTIFICO QUE:

A la Sra. Mariela Leonor Illescas Campoverde y la Srta. Eulalia Rocio Villa Naranjo, egresadas de la escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca, les facilitaré el acercamiento a los pacientes tratados por mi persona, para que ellas les soliciten por medio de un consentimiento informado la autorización de la toma de muestra de sangre para realizar el estudio denominado: **DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE INTERLEUCINA 6 (IL-6), PROTEINA C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGIAS AUTOINMUNES.**

Es todo lo que puedo decir en honor a la verdad.

Atentamente,


Dra. María del Carmen Ochoa



INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL
HOSPITAL JOSE CARRASCO ARTEAGA
Dirección Técnica de Investigación y Docencia

**ACTA DE ENTREGA RECEPCION
PROTOCOLOS PARA INVESTIGACION**

En la ciudad de Cuenca, a los veinte y tres días del mes de mayo del presente año, recibo oficio y protocolo de Investigación.

FECHA DE RECEPCION	23/05/2013
FECHA DE ACEPTACION	
TITULO	DETERMINACIÓN DE LA CONCETRACIÓN DE INTERLEUCINA 6 (IL-6), PROTEINAS C REACTIVA (PCR) Y FACTOR REUMATOIDE (FR) EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE PATOLOGÍAS AUTOINMUNES
AUTORES	MARIELA ILLESCAS, EULALIA VILLA
CORREO ELECTRONICO	eulaliavn@hotmail.com
DIRECCION	CHORDELEG SECTOR DE GASOLINERA
TELEFONO	2223495
CELULAR	0996160923
REVISORES	

Para constancia de lo actuado se firma en original y una copia

TANIA CRESPO ASTUDILLO
SECRETARIA

EULALIA ROCIO VILLA NARANJO
ESTUDIANTE DEL U. DE CUENCA