

Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

**DETERMINACION DE LOS ANTICUERPOS ANTI-
PROTEINAS CITRULINADAS EN SUERO DE PACIENTES
CON SOSPECHA O CON DIAGNOSTICO ESTABLECIDO DE
ARTRITIS REUMATOIDEA**

Informe de Tesis.

Presentado por:

Claudia Lucrecia Motta Estrada

Para optar al ttítulo de

Química Bióloga

Guatemala, abril de 2007

INDICE

	Pàgina
I. Resumen	1
II. Introducció	2
III. Antecedentes	4
A. Consideraciones generales	4
B. Características clinicas	4
C. Criterios clínicos para el diagnóstico de Artritis Reumatoidea	5
D. Inmunopatogénesis	7
E. Características de laboratorio	7
1. Química sanguínea	8
2. Pruebas serológicas	8
F. Proteínas Citrulinadas y la Artritis Reumatoidea	10
G. Manifestaciones radiológicas	12
H. Diagnostico diferencial de Artritis Reumatoidea	12
I. Tratamiento	13
III. Justificación	17
IV. Objetivos	18
A. Generales	18
B. Específicos	18
V. Hipótesis	19
VI. Materiales y métodos	
A. Universo	20
B. Muestra	20
C. Recursos	20
1. Humanos	20
2. Institucionales	20
3. Físicos	21
D. Metodología	22

VII. Diseño experimental	23
1. Variables	23
2. Diseño de muestreo	23
3. Análisis de resultados	24
VIII. Resultados	25
IX. Discusión de resultados	27
X. Conclusiones	29
XI. Recomendaciones	30
XII. Referencias	31
XIII. Anexos	35

I. RESUMEN

La Artritis Reumatoidea (AR) es una enfermedad inflamatoria sistémica de carácter crónico que se manifiesta principalmente en las articulaciones, originando dolor, rigidez, hinchazón y pérdida de la función. Puede presentarse a cualquier edad predominando mayormente entre los 20 y 45 años. Su diagnóstico depende principalmente de las manifestaciones clínicas y pruebas serológicas tales como el Factor Reumatoideo (FR), el cual se encuentra en alrededor del 50-80% de los pacientes con AR e incluso en otras afecciones autoinmunes y en personas sanas de la tercera edad.

Estudios recientes han demostrado la presencia de anticuerpos contra proteínas citrulinadas (anti-CCP), los cuales han sido considerados con anterioridad con elevado potencial para distinguir la AR de forma específica de otras enfermedades reumáticas autoinmunes.

Los objetivos de este estudio fueron los siguientes: determinar la presencia de dichos anticuerpos en pacientes con sospecha clínica y radiológica, o bien con diagnóstico ya establecido de AR y al mismo tiempo demostrar que el diagnóstico de AR puede mejorarse al combinar la especificidad y sensibilidad de los anti-CCP junto al FR.

La detección serológica de anti-CCP se llevó a cabo utilizando el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y el método de aglutinación de partículas de látex para el FR. Se analizaron 108 sueros de pacientes a los cuales se les efectuaron el siguiente panel de pruebas: anti-CCP, FR, CRP y VSE. De esto, se confirmaron 52 pacientes con AR, demostrándose que tanto la sensibilidad como la especificidad fue mucho mayor para los anti-CCP que para el FR y se concluyó que los primeros son valiosos en el diagnóstico de la enfermedad ya que pueden encontrarse en casos seronegativos para el FR.

II. INTRODUCCIÓN

La Artritis Reumatoidea (AR) es una enfermedad autoinmune de etiología desconocida, aunque se sospecha que esta enfermedad puede ser desencadenada por factores ambientales (virus como: sarampión, rubéola y Epstein-Barr) o genéticos (en personas que presentan antígenos HLA-DR1 y HLA-DR4).

La AR es una entidad crónica que puede presentarse a cualquier edad predominando mayormente en la cuarta y sexta década de vida, afectando mayormente a mujeres con una relación de 3:1 con respecto a los hombres.

La AR se inicia característicamente en las pequeñas articulaciones, provocando dolor articular durante los movimientos activos y pasivos, los cuales adquieren significancia cuando se acompañan de tumefacción, resultado de la hipertrofia sinovial y el derrame articular.

La AR puede causar incapacidad progresiva lo cual repercute en el desempeño laboral del paciente y por tanto, se convierte en un problema económico y social, pues muchos pacientes que padecen la enfermedad se ven en la necesidad de abandonar sus ocupaciones, principalmente cuando estas son del tipo manual.

El diagnóstico de la AR depende principalmente de las manifestaciones clínicas. Hasta hace poco, la única prueba serológica que se utilizaba consistía en la determinación de la presencia de factores reumatoideos (FR) en el suero, los cuales está presentes en alrededor del 50-80% de los pacientes con AR, pero también están en pacientes con otro tipo de enfermedades autoinmunes y en algunas personas saludables de la tercera edad.

Mediante estudios recientes se ha descubierto la presencia de proteínas citrulinadas en personas con AR, puesto que resulta ser mejor que el FR en

términos de especificidad (97%) y sensibilidad (70%) para el diagnóstico de dicha enfermedad. También se han detectado los anti-CCP en personas que padecen de otras enfermedades autoinmunes, considerándose de alto potencial para distinguir la AR temprana de otras poliartritis, así como en pacientes que padecen de AR y son seronegativos para el FR.

Además de lo anterior, es importante denotar que la especificidad para la AR puede ser incrementada aun más combinando la presencia de anti-CCP con el FR. Por ello, se consideró importante determinar dichos anticuerpos debido a que no hay estudios previos de pacientes con AR en Guatemala.

El presente estudio incluye la determinación serológica de anti-CCP en pacientes que asistieron por lo menos una vez a las clínicas de la Asociación Guatemalteca Anti-enfermedades Reumáticas (AGAR) durante el período del dos de junio al dos de noviembre del 2005 y que cumplan con los criterios establecidos por el Colegio Americano de Reumatología (ACR) para el diagnóstico de AR.

También se pretendió determinar la presencia de anti-CCP con el propósito de diagnosticar la AR y al mismo tiempo establecerlo como metodología de rutina en AGAR. El método que se empleó para la detección de los anticuerpos anti-CCP es el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y aglutinación de partículas de látex para FR.

III. ANTECEDENTES

A. Consideraciones generales

La AR es una enfermedad inflamatoria sistémica de carácter crónico y etiología desconocida que se manifiesta principalmente en las articulaciones originando: dolor, rigidez, hinchazón y pérdida de la función, desarrollando sinovitis persistente y progresiva en las articulaciones periféricas, que en ocasiones puede acompañarse de inflamación en otros órganos (1-3).

La AR es un desorden alta prevalencia dentro de las enfermedades musculoesqueléticas causando invalidez progresiva. Afecta más a mujeres que a hombres, con una relación de 0.5% en varones y 1.8% en mujeres y tiene una prevalencia mundial del 1-2% y una incidencia de 90 casos/100,000 habitantes por año. El daño articular causado por la enfermedad produce deformidades y puede destruir gradualmente las articulaciones (1,2,4)

La atrofia muscular periarticular es precoz y puede llegar a ser severa y generalizada. Al inicio la AR puede afectar cualquier articulación diartrodial, siendo características las metacarpofalangicas en especial la II y III, las interfalángicas proximales, muñecas y metatarsofalángicas. Los síntomas constitucionales incluyen malestar general, perdida de peso y fiebre (5-7).

Entre un 10-20% de los pacientes pueden presentar clínicamente un cuadro de AR y ser seronegativos para FR (8).

B. Características clínicas

1. Síntomas y Signos

Habitualmente la AR inicia entre los 20 y 45 años. En la mayoría de los casos la enfermedad presenta manifestaciones extraarticulares en las que se pueden observar nódulos subcutáneos, neuropatías, pericarditis, esplenomegalia, etc (7).

La artritis reumatoidea suele presentarse de forma simétrica, es decir, que afecta ambas partes del cuerpo, siendo las más propensas: rodillas, caderas, codos, tobillos y pie (9,10).

2. Patología de la artritis reumatoidea

Las alteraciones histopatológicas de la artritis reumatoide pueden dividirse en tres fases: En la primera hay una inflamación aguda, en la cual la membrana sinovial se halla infiltrada por leucocitos polimorfonucleares, linfocitos y ocasionalmente células plasmáticas que provocan edema intenso, junto a ello aparece una hipertrofia de la membrana sinovial. La segunda fase comprende la infiltración de linfocitos, células plasmáticas, linfocitos polimorfonucleares y macrófagos, la membrana de constitución normalmente filamentosa y de pequeñísimo grosor se torna en una masa tumefacta, edematosa y roja (pannus). En la etapa final el pannus, se extiende e invade la capa de tejido conjuntivo compuesta por cartílago, hueso y ligamentos: en este proceso participan fibroblastos, fragmentos de tejido conjuntivo y elementos vasculares. Se produce una degranulación celular y proteolítica de las enzimas lo cual lesiona tanto al tejido conjuntivo, como al hueso expuesto (14).

3. Patogénesis

El papel de la inflamación en la producción del daño articular, periarticular y extraarticular es evidente. Una variedad de enzimas lisosómicas, proteasas neutras y colagenasas sinoviales son capaces de hidrolizar los componentes del tejido conectivo, induciendo daño tisular (15).

C. Criterios clínicos para el diagnóstico de AR

En 1987 la Asociación Americana de Reumatología (ARA) estableció 7 criterios para el diagnóstico de AR. Los cuales se presentan en el cuadro 1 (3, 7, 12,13).

Cuadro 1. Criterios Clínicos para el Diagnóstico de AR según la ACR.

Criterio	Descripción.
Rigidez matutina:	Rigidez en y alrededor de las articulaciones, de menos una hora de duración antes de la mejoría máxima (3, 7, 12,13).
Artritis de 3 o más Áreas articulares:	Al menos tres áreas articulares deben tener. Simultáneamente hinchazón de tejidos blandos o derrame (no solo crecimiento óseo), observado por un médico. Las áreas posibles son: interfalángicas proximales (IFP), metacarpofalángicas (MCF), muñecas, codos, rodillas, tobillos y metatarsofalángicas (MTF) derechas e izquierdas (12).
Artritis de las manos:	Al menos un área inflamada en muñeca, metacarpofalángicas o interfalángicas proximales (11-13).
Artritis simétrica:	Alteración simultánea de las mismas áreas articulares, en ambos lados del cuerpo (12).
Nódulos reumatoideos:	Nódulos subcutáneos sobre las prominencias óseas, superficies extensoras o regiones yuxta-articulares, observadas por un médico (12).
Factor reumetoideo:	Demostración de cantidades anormales de FR en el suero por un método que sea positivo en menos del 5% de la población de controles normales (12).
Cambios radiológicos:	Típicos de AR en radiografía de manos y muñecas, deben incluir erosiones o descalcificación inequívoca en articulaciones afectadas (7, 12,13)

Fuente: Información recopilada de la bibliografía citada.

D. Inmunopatogénesis

En la respuesta inmune a nivel sinovial en la AR participa el endotelio vascular, la sinovial, numerosas células del sistema inmune y las moléculas producidas por ellas. La posible, pero no demostrada reacción iniciada por la presentación de un antígeno por parte de células presentes en la sinovial desencadena la producción de cito y quimoquinas que atraen polimorfonucleares. De las células que infiltra la sinovial, 40% son linfocitos T CD4+ y en una menor proporción CD8+, la mayoría de fenotipo de memoria (CD2a+, CD45 –RO) que presentan señales de estar activadas, como incremento en moléculas HLA-II y receptores para Interleucina dos (IL-2) (8).

La presencia de las células mencionadas, genera una producción de interleucina uno (IL-1), Factor de Necrosis Tumoral (TNF α), interleucina seis (IL-6), IL8, IL10, eicosanoides, enzimas proteolíticas y radicales que además de su efecto sistémico, tienen a nivel local efecto sobre el endotelio, condrocitos y osteoclastos. Las IL-6 y IL-10 activan a linfocitos B y los transforman en células plasmáticas que localmente producen inmunoglobulinas IgM contra el segmento Fc de la IgG, conocida como factor reumatoide de las clases IgG o IgA. Las IL-1 y IL-10 activan la subpoblación de linfocitos B CD5+ que producen anticuerpos naturales y algunos autoanticuerpos. Los polimorfonucleares atraídos al sitio de la inflamación pasan al líquido sinovial en donde se degranulan y activan el sistema del complemento incrementando el proceso inflamatorio produciendo enzimas que aumentan el daño al cartílago y hueso (8).

E. Características de laboratorio

La anemia normocítica normocrómica y la trombosis son frecuentes entre los individuos con AR activa, así como la elevación de la velocidad de sedimentación y proteína C reactiva (CRP), cuyo aumento se puede correlacionar con la actividad de la enfermedad.

El líquido sinovial es más inflamatorio que el que se aprecia en la osteoartritis degenerativa o en lupus. El conteo de leucocitos en general es de 5,000-20,000/mL (pocas veces mayor de 50,000/mL). Dos tercios de las células son polimorfonucleares que descargan enzimas lisosómicas en el líquido sinovial, originando despolimerización del hialuronato sinovial, reducción de la viscosidad y un coagulo pobre de mucina. Los valores de glucosa pueden ser bajos o normales.

El derrame pleural reumatoide es un exudado que contiene menos de 5,000 leucocitos mononucleares o polimorfonucleares por mililitro. Las proteínas totales exceden los 3g/dL, y la glucosa muchas veces está disminuida hasta 20 mg/dL. Puede detectarse regularmente el complemento disminuido (20).

1. Química sanguínea

Las concentraciones de proteínas plasmáticas se encuentran normales, se presenta una ligera hiperproteinemia en muchos casos, pero siempre en tendencia a la hipoalbuminemia, al aumento de las globulinas y a la inversión del cociente albumina/globulina. Las globulinas alfa-2 y a veces alfa-3 son las que aumentan y por lo tanto en la enfermedad se elevan también las gammaglobulinas. El fibrinógeno se ve aumentado, los colesterolos normales y la CPK inferior a lo normal (17,21).

2. Pruebas serológicas

En la AR se presenta el CRP positivo, anticuerpos frente a la microglobulina beta-2 positivos en el 26% de los casos, anticuerpos antinucleares positivos (FANA) (pero no anti-DNA), interleucinas IL-1 e IL-6 elevadas según el grado de actividad del proceso. La producción de autoanticuerpos tipo IgM con especificidad para el fragmento Fc de la inmunoglobulina G (IgG) es una anomalía inmunológica importante en la AR. El factor reumatoideo no es específico de la AR. Estos autoanticuerpos se detectan también en individuos normales y en pacientes con diversos trastornos incluyendo infección bacteriana crónica, órganos

transplantados y en algunas enfermedades reumáticas inflamatorias. La prevalencia en individuos normales aumenta con la edad. El FR no está presente en todos los pacientes con AR. A pesar de estas limitaciones, el FR es el marcador principal de laboratorio de la AR. Se asocia a enfermedad severa, y las manifestaciones extraarticulares se ven casi exclusivamente en pacientes con AR seropositiva (14).

Es esencial la comprensión de los mecanismos que llevan a la producción de FR y sus posibles funciones efectoras para dilucidar la patogenia de la AR, ya que, los FR son los autoanticuerpos principales de la AR. Reconocen un arreglo diverso de epitopes en el fragmento Fc de la IgG. Las células B que producen FR son policlonales y utilizan un conjunto diverso de segmentos de genes de inmunoglobulinas. La producción de FR es un fenómeno que depende de las células T y es influenciado por el polimorfismo del HLA-DRB1.

Se desconocen los factores que inician la producción del FR, la mayoría son del isotipo IgM y muchos genes de inmunoglobulinas secuenciales. Estos datos sugieren que la activación policlonal de las células B está implicada en el inicio de la producción del FR en la enfermedad temprana (14).

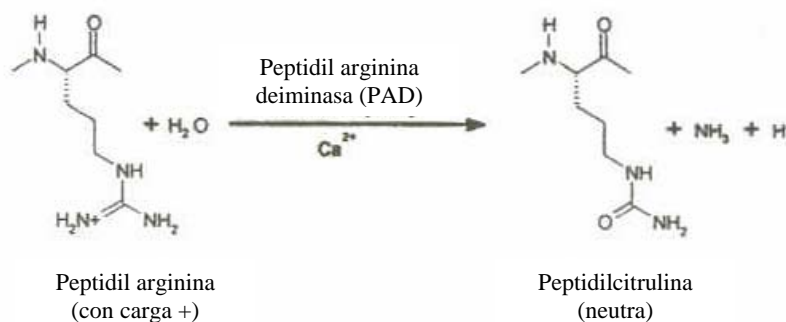
Un 10-20% de los pacientes pueden presentar clínicamente un cuadro de AR en ausencia del FR. En términos generales los títulos de FR se correlacionan con la evolución clínica de la enfermedad, incrementándose durante las recrudescencias de la misma y disminuyendo en aquellos períodos en los cuales espontáneamente o por tratamiento hay remisión de la enfermedad. El FR está presente en otras entidades como lupus eritematoso sistémico (LES), Sjögren primario, esclerodermia, dermatomiositis, en algunos casos de tuberculosis, sarcoidosis, endocarditis etc (8, 14,15).

Estudios de cohorte y de casos y controles revelan que el hábito de fumar se puede considerar como un factor de riesgo ambiental por el incremento del FR en personas sanas (15).

F. Proteínas citrulinadas y la artritis reumatoidea.

1. Definición

La citrulina es un aminoácido inusual que se genera por una modificación post-traducciona de los residuos de peptidil arginina, esta modificación es catalizada por la enzima peptidil arginina deiminasa (PAD) para producir como producto final peptidil citrulina (23,24).



Un péptido circular sintético que contiene citrulina llamado CCP (cuyas siglas en inglés significan Cyclic Citrullinated Peptide) ha resultado ser la mejor prueba para distinguir a los pacientes con AR de otras enfermedades autoinmunes. Una vez reacciona la peptidil citrulina, se induce el apareamiento de un sistema de autoanticuerpos descubierto recientemente, el cual puede ser medido utilizando los péptidos cíclicos citrulinados (CCP) como antígenos (24-27).

Estudios recientes han demostrado la presencia de proteínas citrulinadas en las articulaciones de pacientes con AR, pero no en las de las personas que padecían otras enfermedades articulares, lo cual permite elaborar una base teórica sobre la presencia de anti-CCP en pacientes con esta enfermedad y el posible papel de estos anticuerpos en la patogenia de la misma (25,27).

La alta especificidad de esta prueba para detectar pacientes con AR apoya la importancia de los procesos de citrulinación temprana en el desarrollo de esta enfermedad cuando la misma es de inicio reciente (23, 28).

Se ha establecido que la evolución de la enfermedad y su desenlace dependen del diagnóstico temprano y del inicio de un tratamiento efectivo, que controle la inflamación y evite la destrucción articular (27,29).

Varios estudios han establecido que los anti-CCP, son más sensibles y específicos que el FR en el diagnóstico de la AR en pacientes con larga evolución de la enfermedad, como en aquellos con formas tempranas incluso en etapas previas a la aparición de las manifestaciones clínicas. También se ha establecido su papel en el monitoreo de la enfermedad, asociándose a formas más severas en la que es evidente un mayor daño articular (30-32).

2. Epidemiología

Las proteínas citrulinadas pueden detectarse en mas del 80% de los pacientes con AR con una especificidad de más del 98%.

Según Rantapää, *et al*, los anticuerpos anti-péptidos cíclicos citrulinados, han sido detectados en un 34% de individuos que desarrollaron después la AR y a tal grado que se detectaron muestras positivas desde 4.5 meses a mas de 9 años antes de el inicio de los síntomas. La frecuencia de muestras positivas se incrementaba de acuerdo a la cercanía del paciente al inicio de la enfermedad (23).

La especificidad para la AR puede aumentar al combinar el análisis de los anti-CCP con el del FR ya que ambos contienen antígenos como la filagrina (factor perinuclear) que han demostrado predecir el inicio de la enfermedad en individuos con anticuerpos FR de mas de un isotipo (frecuentemente IgM e IgA) combinados.

Se ha evaluado la asociación de los anti-CCP con el FR (IgA e IgM), con el fin de discriminar la AR de otras enfermedades reumáticas, logrando determinar la asociación existente entre los signos clínicos de la severidad de la enfermedad, incluyéndose como una prueba de utilidad potencial para el pronóstico de la enfermedad (23, 27, 33,34).

G. Manifestaciones radiológicas

Las radiografías permiten confirmar o detectar cambios patológicos en las articulaciones y tejidos periarticulares así mismo detectar sitios de compromiso.

La manifestación radiológica inicial de AR comprende la distensión de la cápsula articular, por derrame y engrosamiento sinovial y por edema de ligamentos y vainas tendinosas, en especial el tendón del músculo cubital posterior junto a la apófisis estiloides del cúbito, en los comienzos de la enfermedad puede aparecer engrosamiento perióstico (17,18).

Las lesiones se localizan en los márgenes y comienzan en los lados de las articulaciones en el punto de unión del cartílago articular y la zona en que se refleja la sombra sinovial. Aparece fusión y compresión en el sitio en que los huesos vecinos quedan en contacto directo por la destrucción completa del cartílago articular, demostrándose también la presencia de nódulos en tejidos blandos en áreas de fricción (19).

H. Diagnóstico diferencial de AR

La diferenciación de la AR de otras enfermedades del tejido conectivo puede ser difícil en algunas ocasiones, sobre todo en los estadios tempranos, cuando el cuadro clínico corresponde a una poliartritis aguda febril o de una enfermedad monoarticular como las siguientes: fiebre reumática, artritis piogénica, lupus eritematoso sistémico, artritis gotosa, etc (17,20).

I. Tratamiento

El plan terapéutico de la AR presenta varias dificultades, debido a que su etiología es desconocida y sus aspectos evolutivos son muy peculiares. Sin embargo es posible delinear las normas generales que rigen la orientación terapéutica de acuerdo con los siguientes pasos:

- Aliviar el dolor y la inflamación de las estructuras articulares y tendinosas.
- Abreviar las fases de agudización y prolongar la remisión.
- Aliviar o disminuir las manifestaciones viscerales o sistémicas.
- Frenar el proceso reestableciendo la función articular (aquí juega un papel importante la fisioterapia).
- Corregir las deformaciones articulares y tendinosas.
- Vigilar al paciente en relación con las complicaciones renales, vasculares, neurológicas, infecciosas y otras.

El tratamiento farmacológico es sin duda uno de los aspectos fundamentales para tratar de modificar la evolución del padecimiento.

1. Antipalúdicos (cloroquina e hidroxicloroquina)

Muchos reumatólogos recomiendan el uso de antipalúdicos durante periodos prolongados. No está claro el mecanismo de acción, pero parece afectar la función de los monocitos. Los antipalúdicos actúan lentamente y a menudo requieren de 1 a 6 meses de tratamiento para obtener el beneficio terapéutico máximo. Los efectos adversos incluyen exantemas, náuseas y vómitos, miopatías y daños corneales y retinianos. Es infrecuente la toxicidad ocular a las dosis bajas utilizadas en AR (17,20).

2. Sales de oro

Aunque se relaciona con una alta incidencia de efectos colaterales tóxicos, la terapéutica parenteral con sales de oro es muy efectiva (19).

No se ha conocido a fondo el mecanismo de acción de este agente no esteroideo en individuos con AR, sin embargo entre sus posibles mecanismos de acción se hallan los siguientes: inhibición de las enzimas lisosómicas, estabilización de las membranas lisosómicas, disminución de la actividad fagocítica de macrófagos y polimorfonucleares en el líquido sinovial, inhibición de la actividad migratoria de células inflamatorias, prevención de la impermeabilidad capilar en estados inflamatorios y estabilización del colágeno (17).

Los efectos adversos son: dermatitis, fotosensibilidad, estomatitis, trombocitopenia, agranulocitosis, anemia aplásica, síndrome nefrótico, etc (20).

3. Penicilamina

Se ha utilizado en el tratamiento de AR. Lo mismo que el oro, la penicilamina es un antiinflamatorio no esteroideo de acción lenta que puede pasar hasta seis meses para que haga evidente la respuesta terapéutica. La incidencia de toxicidad es similar a la del oro parenteral. Los efectos tóxicos colaterales son: erupción, pérdida del sentido del gusto, anorexia, proteinuria, agranulocitosis, y anemia aplásica, entre otros (20).

4. Corticosteroides

La inyección intraarticular intermitente de corticosteroides es útil para el individuo con síntomas en pocas articulaciones, debido a que produce alivio de larga duración. Deberán evitarse las inyecciones múltiples intraarticulares que soportan peso, ya que ello puede originar daños al cartílago (20).

El tratamiento sistémico con corticosteroides a largo plazo ocasiona hiperadrenocorticalismo y rotura del eje hipofisis-suprarrenal. Las manifestaciones de toxicidad por corticosteroides incluyen ganancia de peso, equimosis, osteoporosis, diabetes sacarina, cataratas, etc (37).

5. Ibuprofen

Es un derivado del ácido propiónico, su eficacia es similar a la indometacina y la aspirina. Noventa minutos después de su administración se alcanzan los niveles máximos en sangre. La vida media promedio es de horas y por esta causa, el régimen recomendado es dar el fármaco cuatro veces al día. En promedio 60% del fármaco se excreta por la orina y el resto por las vías intestinales. La dosis corriente es de 2,400 mg al día por vía oral en tres o cuatro fracciones (38).

6. Inmunosupresores

Se ha demostrado que el antimetabolito metotrexato induce una mejoría marcada en pacientes con enfermedad grave. El metotrexato ha sustituido considerablemente al oro y a la penicilamina en el tratamiento de AR. Los efectos colaterales incluyen depresión de la medula ósea, toxicidad hepática, úlceras bucales y teratogénesis. Los alquilantes como clorambucil, ciclofosfamida y análogos de la purina como mercaptopurina y azatioprina también se han utilizado en el tratamiento de la AR sin embargo estos se relacionan con efectos tóxicos colaterales importantes e incremento en la incidencia de neoplasias e infección, por lo tanto deben de utilizarse con sumo cuidado (19,20).

7. Tratamientos biológicos

El ejercicio puede mejorar la salud y aptitud física sin lesionar las articulaciones contribuyendo a disminuir la fatiga, fortalecer los músculos y huesos, aumentar la flexibilidad y mejorar la sensación de bienestar general del paciente siempre y cuando el médico indique cuándo debe realizarse y con qué frecuencia, determinando la mejor combinación de actividad y descanso según la afección. La intensidad y frecuencia del ejercicio, se basarán en la severidad de la enfermedad adaptando las actividades para lograr el mejor estado físico posible.

Cuando el paciente padece dolor e hinchazón articular, el descanso ayudará a disminuir la inflamación. Los ejercicios que pueden realizar son aquellos que se ocupan de la movilidad de las articulaciones en amplitud de movimientos isométricos para brindar fortaleza muscular. Los primeros ayudan a mantener la movilidad de las articulaciones y usualmente se realizan sin peso. Se deben mover las articulaciones a lo largo de la amplitud completa de movimiento, prestando especial atención al movimiento final donde la movilidad podría perderse primero. Los ejercicios isométricos contribuyen a mantener fuertes los músculos sin mover las articulaciones, estos no implican movimiento articular, por tanto pueden realizarse cómodamente incluso cuando la inflamación está presente, seguidamente continuar con ejercicios acuáticos durante los períodos de agudización debido a que la flotación del agua ayuda a proteger las articulaciones y facilita los movimientos. Cuando los síntomas estén bajo control, deberá reanudar gradualmente un programa completo de ejercicios incluyendo aeróbicos. El ejercicio cardiovascular es importante para la salud en general, control del peso, fortaleza muscular y para el nivel de energía. Los programas de bajo impacto como caminar o utilizar bicicleta estacionaria son buenas opciones para un tratamiento biológico de la AR (39).

8. Tratamiento quirúrgico

La cirugía ortopédica es parte complementaria del tratamiento general del paciente con AR, se realiza con el fin de corregir o compensar el daño articular. La artroplastía se utiliza para mantener o mejorar la movilidad articular. La artrodesis se puede usar para corregir la deformidad y aliviar el dolor, pero ocasiona pérdida de la movilidad. La sinovectomía temprana puede prevenir el daño articular o rotura del tendón, y disminuir el dolor y la inflamación en una articulación determinada, pero muchas veces el sinovio crece de nuevo y regresan los síntomas (20,40).

V. JUSTIFICACIÓN

La AR está asociada significativamente a la pérdida de la función física y al deterioro de la calidad de vida de las personas que la padecen. La mayoría de los pacientes experimentan un curso crónico e insidioso, a pesar del tratamiento, lo que con el tiempo produce destrucción articular, deformidad, discapacidad y hasta muerte prematura.

Recientemente se ha establecido que la evolución de la enfermedad depende del diagnóstico temprano y del inicio de un tratamiento efectivo que controle la inflamación y evite la destrucción articular, es por ello que en la última década se ha incrementado el estudio de otros métodos para la detección de AR temprana para evitar tales complicaciones. Esto puede lograrse detectando los anticuerpos anti-CCP, que actúan como prueba diagnóstica y pronóstica para detectar AR en etapa temprana inclusive en pacientes que presentan FR negativo.

En Guatemala no existía ningún estudio sobre detección de anticuerpos anti-CCP en pacientes con AR, por ello se hizo importante utilizar dicha prueba con el fin de promover el tratamiento temprano, detectando estos anticuerpos en población guatemalteca con sospecha clínica o para confirmar el diagnóstico de AR, permitiendo la utilización en la práctica clínica de rutina contribuyendo al diagnóstico, tratamiento y pronóstico de la AR, logrando disminuir la severidad de la enfermedad e incluso el apareamiento de los síntomas.

V. OBJETIVOS

A. Generales

- Establecer el diagnóstico de AR de inicio reciente a través de la determinación de anticuerpos anti-CCP en suero de pacientes que asisten a las clínicas de la Asociación Guatemalteca Anti-enfermedades Reumáticas (AGAR), logrando que el paciente obtenga rápidamente beneficio terapéutico para mejorar la calidad de vida y disminuir las complicaciones producidas por la enfermedad.

B. Específicos

- Determinar la presencia de anti-CCP en suero de pacientes guatemaltecos con sospecha clínica y radiológica o bien con diagnóstico ya establecido de AR y al mismo tiempo comparar los resultados obtenidos con los del FR.
- Demostrar que el diagnóstico de AR puede mejorarse (evaluando resultados positivos de ambas pruebas) al combinar la especificidad de anticuerpos anti-CCP y la sensibilidad del FR.
- Establecer el método de anti-CCP como prueba de rutina en las clínicas AGAR, en base a los resultados de sensibilidad y especificidad obtenidos en este estudio, con la finalidad de diagnosticar tempranamente o confirmar la AR.

VI. HIPÓTESIS

Este es un estudio descriptivo, por tal motivo no lleva hipótesis.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Se Incluyeron a todos los paciente que asistieron a las clínicas de AGAR durante el período comprendido del dos de junio al dos de noviembre del año 2005, los cuales presentaron sospecha clínica y radiológica o bien diagnóstico ya establecido de AR de acuerdo a los criterios del ACR (ver tabla 1, página 6).

B. Muestra

Suero extraído de muestras de pacientes con sospecha clínica o con diagnóstico de AR de dos años o menos de haberse establecido, que asistieron a las Clínicas AGAR durante el período comprendido entre el dos de junio al dos de noviembre del 2005.

- Se incluyeron pacientes entre 25-85 años de edad, de cualquier etnia y condición socio-económica.
- Se obtuvieron consentimientos escritos de participación por cada uno de los pacientes los cuales autorizaron participar en el estudio.

C. Recursos

1. Recursos humanos

- Lic. Herberth Arévalo Pérez ,asesor
- Dr. Abraham García Kutzbach, médico Reumatólogo.
- Personal médico.
- Tesista

2. Recursos institucionales

- Asociación Guatemalteca anti-Enfermedades Reumáticas.
- Clínica del Dr. Abraham García Kutzbach, Hospital Herrera Llerandi.
- Biblioteca Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala.

- Biblioteca Facultad de Ciencias Médicas, Universidad San Carlos de Guatemala.

3. Recursos físicos

a. Equipo

- Centrífuga marca Clay-Adams
- Lector de ELISA marca Becton-Dickinson
- Computadora
- Impresora.
- Incubadora a 37°C
- Cronómetro.
- Pipetas automáticas de 100 a 1000 uL

b. Reactivos

Se utilizaron dos kit de la casa comercial marca Eurodiagnóstica “Inmunoscan RA” basado en un inmunoensayo enzimático (EIA) para la detección *in vitro* de AR por autoanticuerpos específicos (anti-CCP) en suero o plasma que reaccionan con péptidos cíclicos que contengan residuos de citrulina.

Entre los reactivos utilizados se encontraron:

1. Placa sellada de 96 pozos recubiertos con péptidos cíclicos citrulinados
2. Calibradores de diferente concentración (1.2 mL)
3. Suero control positivo (1.2 mL)
4. Suero control negativo (1.2 mL)
5. Conjugado (Peroxidasa conjugada con anticuerpos anti-IgG humanos (15mL).
6. Solución de sustrato tetrametilbenzidina (TMB) (15 mL).
7. Buffer para dilución de muestras (35 mL).
8. Solución de parada (ácido sulfanílico 0.5 M) (15 mL)
9. Buffer de lavado.
10. Agua desmineralizada

c. Materiales

- Tubos de vidrio para recolección de muestra sin anticoagulante.
- Pipetas automáticas de 10-1000 μ L y 100-1000 μ L
- Tubos Eppendorf
- Jeringas
- Algodón
- Hoja de recolección de datos clínicos y de laboratorio para cada paciente.
- Bolígrafo
- Curitas redondas
- Ligadura
- Termómetro
- Puntas (tips) de 10-100 μ L y de 100-1000 μ L
- Alcohol al 70%
- Solución de cloro
- Desinfectante.

D. Metodología

Las pruebas de anti-CCP se realizaron con sueros de pacientes. Las muestras fueron almacenadas un máximo de 48 horas de 4-8°C. Para un almacenamiento prolongado se aconseja congelar a -20°C. De la dilución del suero de 1:50 (10 μ L del suero y 490 μ L de buffer de dilución) se utilizaron 100 μ L para la prueba. Una vez diluidas las muestras y atemperados los reactivos se procedió a:

- a. Pipetear 100 μ L de buffer de dilución (A1; Blanco)
- b. Pipetear 100 μ L de cada calibrador (B1,-F1)
- c. Pipetear 100 μ L de controles, negativo y positivo (G1, H1)
- d. Pipetear 100 μ L de muestras diluidas en los pocillos restantes de la microplaca.
- e. Incubar durante 60 minutos a 37°C en cámara húmeda.

- f. Eliminar la solución y lavar con 300 μ L de solución de lavado.
- g. Eliminar la solución de lavado y agregar nuevamente 300 μ L de la misma.
- h. Repetir esto una vez más.
- i. Pipetear 100 μ L de la solución de conjugado a todos los pocillos.
- j. Incubar durante 60 minutos a 37°C en cámara húmeda
- k. Lavar el conjugado 3 veces como los pasos anteriores 6 y 7.
- l. Pipetear 100 μ L de solución de sustrato en cada pocillo.
- m. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25°C)
- n. Añadir 100 μ L de solución de parada a cada pocillo.
- o. Leer valores de absorbancia inmediatamente a 450 nm.
- p. Se calculó la concentración en unidades/litro para cada muestra construyendo una curva con 5 puntos de intersección, en la cual los valores de “x” correspondieron a la concentración de los 5 calibradores y los valores de “y” a la absorbancia obtenida para cada uno de los mismos.
- q. Se calculó la concentración de los controles negativo, positivo y cada muestra ploteando la absorbancia obtenida con la concentración (41).

E. Diseño experimental

1. Variables:

1.1 Variable dependiente:

Anticuerpos anti-citrulina.

1.2 Variable independiente:

Pacientes con AR que asistieron a consulta las clínicas de AGAR.

2. Diseño de muestreo

Fue un estudio descriptivo, por su naturaleza transversal, en el cual la muestra fue por conveniencia (no probabilístico). Se determinó la presencia de los anticuerpos anti-CCP en pacientes guatemaltecos con diagnóstico o con sospecha clínica de AR que asistieron durante el período de muestreo a las clínicas AGAR.

3. Análisis de resultados

- Se determinaron los casos positivos y negativos para anticuerpos anti-CCP y FR.
- Se realizaron tablas y gráficas representando los resultados de ambas pruebas (anti-CCP vrs FR). Se compararon ambos resultados.
- Se analizaron los resultados obtenidos (anti-CCP y FR) con el diagnóstico clínico establecido según los criterios del ACR.
- Se calcularon las sensibilidades y especificidades de ambas pruebas de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ Sensibilidad} = \frac{(\Sigma \text{Anti-CCP positivos}) \times (100\%)}{\Sigma \text{ Pacientes AR}}$$

$$\% \text{ Especificidad} = \frac{(\Sigma \text{Anti-CCP negativos}) \times (100\%)}{\Sigma \text{ Pacientes No AR}}$$

en donde:

Σ = sumatoria de casos

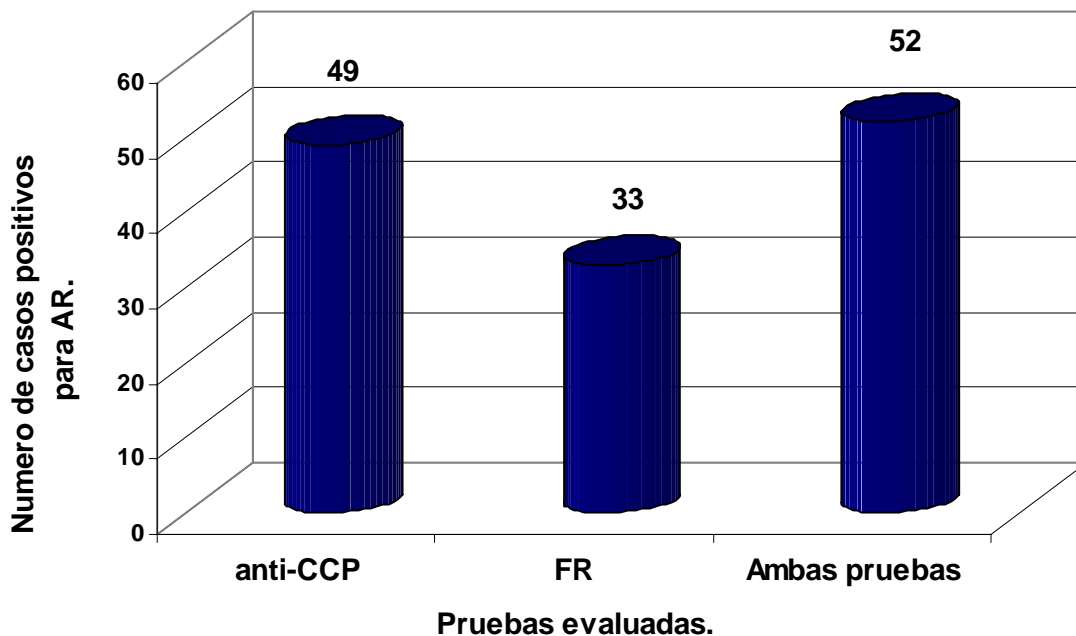
VIII . RESULTADOS

Se analizaron 108 muestras de pacientes, de los cuales 8 fueron de sexo masculino (7%) y 100 de sexo femenino (93%).

A todos los sueros se les efectuaron las pruebas de anti-CCP y FR determinándose 49 casos positivos para el primero (45%) y 33 para FR (31%).

En base a los resultados anteriores, el reumatólogo tratante reevaluó el diagnóstico de cada paciente tomando en cuenta los criterios de la ACR y ambas pruebas en conjunto, confirmando únicamente 52 casos de AR (48%), los que se presentan en la gráfica 1.

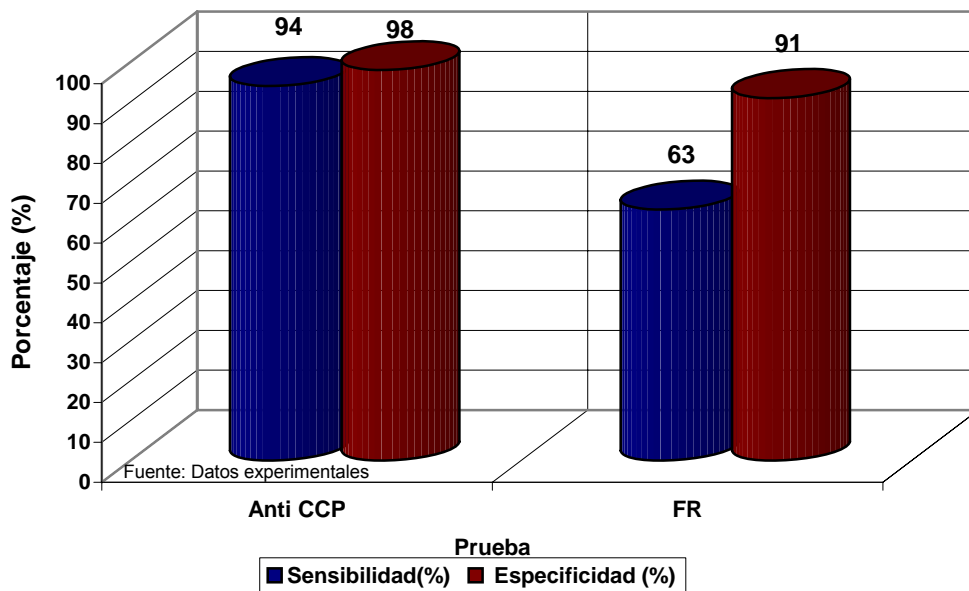
Gráfica 1
Comparación de pacientes diagnosticados con AR utilizando cada prueba por separado y la combinación de ambas. n = 108



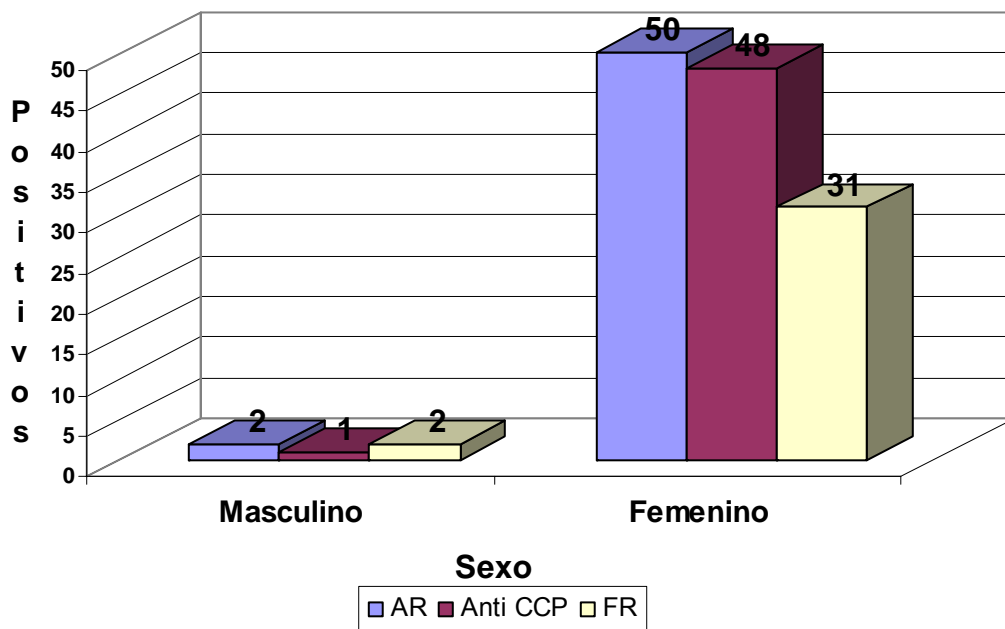
Fuente: Datos experimentales.

De los 56 pacientes restantes clasificados como no AR se determinó 1 caso positivo para anti-CCP y 5 para FR. En la gráfica 2 se presentan los resultados de sensibilidad y especificidad tanto para anti-CCP como para FR, así como la comparación entre dichos parámetros para las dos pruebas evaluadas en este estudio, los cuales se presentan en las tablas de datos (página 38 a 41).

Gráfica 2
Porcentaje de sensibilidad y especificidad para Anti-CCP y FR.
n = 108



Gráfica 3
Concordancia entre AR y pruebas positivas vrs sexo



IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La sospecha clínica de AR (diagnóstico presuntivo) no debería ser suficiente para confirmar esta enfermedad, puesto que se requiere el cumplimiento de los criterios ACR juntamente a la determinación de pruebas serológicas positivas.

Al determinar los anti CCP a pacientes con sospecha clínica, se observó que un elevado porcentaje eran positivos para esta prueba (45%), en los cuales se denotaban manifestaciones clínicas específicas para dicha enfermedad, sin embargo, tal como lo expresan otras referencias bibliográficas, en algunos casos los pacientes llegan a mostrar solamente síntomas leves o atípicos y son positivos para esta prueba. (30, 41,42).

En cuanto a la determinación del FR, el porcentaje de positivos fue menor que el anterior (31%) debido a que esta prueba generalmente detecta una AR con síntomas bien definidos y no cuando dichos síntomas son poco recientes o atípicos para esta afección (ver gráfica 1)

Tomando en consideración únicamente los casos positivos para ambas pruebas (n = 52), es posible efectuar una estimación de la sensibilidad de cada una de las mismas con fines de comparación. Se observó que los anti CCP presentaron mayor sensibilidad que el FR (gráfica 2), lo cual confirma lo expresado por otros autores quienes también lograron detectar estos anticuerpos incluso cuando los síntomas eran inespecíficos, o idealmente cuando las manifestaciones clínicas no se presentaron sino años después. Esto último no es aplicable en este estudio porque la población elegida no eran personas sanas sino pacientes referidos por diversas afecciones autoinmunitarias (23).

En los casos negativos para ambas pruebas (n = 56), la especificidad también fue mayor para anti CCP que para FR como lo demuestran otros estudios

como el efectuado en Colombia en septiembre de 2,004, el cual determinó una mayor especificidad del anti CCP (90%) con respecto al FR (70%), puesto que este último generalmente se detecta en muchas otras enfermedades reumatológicas y el anti CCP solamente se halla en casos de AR (gráfica 2) (43).

Entre los 56 casos clasificados como no AR (52%), se determinó la presencia de 1 caso positivo para anti-CCP y 5 para FR, estos fueron reclasificados por el médico tratante con otro tipo de enfermedad debido a la presencia de un entrecruzamiento de AR con otras enfermedades autoinmunes, lo cual dificulta el diagnóstico diferencial preciso y reduce la especificidad. (Ver anexo 3).

Por lo anterior, se deduce que ambas pruebas no deben considerarse como comparación de métodos para que una sustituya a la otra, sino como parte de un panel serológico, que contribuya verdaderamente a dar el diagnóstico oportuno y certero de la AR, además de servir como herramienta para el monitoreo de la etapa en la cual el reumatólogo pueda situar a un paciente que haya sido diagnosticado previamente, apoyándose en los hallazgos clínicos y de gabinete (rayos X). Mejor aún, ambas pruebas deberían servir para monitorear la evolución de la enfermedad y la efectividad del tratamiento.

Por último, se determinó que del total de pacientes analizados la mayoría eran del sexo femenino, esto confirma lo evidenciado por diversos estudios publicados en otros países, los cuales han concluido que este sexo presenta mayor riesgo de desarrollar AR encontrándose en esta investigación una relación de 13 mujeres por cada hombre que padeció la enfermedad (23,42).

X. CONCLUSIONES

- Se concluyó que ambas pruebas deben ser utilizadas de forma paralela y en conjunto con los criterios de la ACR para incrementar la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de AR de forma significativa, tal como se demostró en los resultados, así también, para el monitoreo de la evolución de la enfermedad.
- Se demostró que los anticuerpos anti-CCP contribuyeron a un diagnóstico más certero de la AR en términos de mayor sensibilidad y especificidad con respecto al FR y es por esta razón que una prueba no debe sustituir a la otra sino utilizarse en conjunto como un panel serológico.
- La sospecha clínica de la enfermedad requiere la determinación de ambas pruebas para reevaluar el diagnóstico de AR, principalmente en los casos en que los síntomas sean atípicos o inciertos.

XI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda emplear los anticuerpos anti-CCP y el FR como pruebas serológicas para el diagnóstico de la AR y no por separado, debido a que se demostró que la utilización de ambas en conjunto mejora en gran medida la especificidad del diagnóstico.
- Divulgar la existencia de esta prueba tanto al profesional de laboratorio clínico y médico, para que sea utilizada de rutina en el diagnóstico apropiado de la AR.
- Se observó que las concentraciones de anti-CCP eran directamente proporcionales al tiempo de padecimiento de la enfermedad (años) por lo que puede ser utilizado al igual que el FR con fines de monitoreo.

XII. REFERENCIAS

1. Goldstein R, *et al.* The Genetic of Rheumatic Disease in Man. *Rheumatic Diseases Clinics of North América.* 1987;13:487-503
2. Winchester R. Genetic determination of susceptibility and severity in Rheumatoid Arthritis. *Annals of Intern Medicine.* 1997;117:869-71
3. Klippel J. *Principios de Enfermedades Reumáticas.* 11ª edición tomo I, Editorial Ed Pfizer. Atlanta USA 1999; pp179-186.
4. Wernhoff P. Olofson P. The Genetic Control of Factor Production in a Rats Model of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis & Rheumatism.* 2003;48:3584-3596
5. Rotes J. *Tratamiento de Artritis Reumatoide.* Madrid: Editorial Mosby, 1997; pp5-18.
6. García L. Frecuencia de Anticuerpos Antinucleares en la población Guatemalteca con síntomas reumatológicos y su correlación con diferentes colagenopatías. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación Facultad de ciencias Químicas y Farmacia) 1992. pp23-32.
7. Fiero, A. Caride, R. Artritis Reumatoidea. *Clínicas Medicas del Uruguay.* 2000; 1:12-27.
8. Wallach, J. *Interpretación Clínica de las Pruebas de Laboratorio* 4ta edición. Editorial Masson. Barcelona. 2000 pp390-395.
9. www.ser.es/actividades/daleelalto/dossier1.html. Tratamiento biológico para la Artritis Reumatoidea. 1 Mayo 2002, Consultado en junio de 2004.
10. Backmann R. *et al.* Arthritis: Ease morning pain. *Consumer reports on Health. N. Eng. J. Med.* 1997;3:61
11. García Sayra. Expresión clínica y tipificación de HLA-DR4 en pacientes con Artritis Reumatoide. Guatemala. Universidad de San Carlos. (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002. pp. 10-11.
12. Arnett FC. *et al.* The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-324.
13. Ramos Niembro, F. *Enfermedades Reumáticas, Criterios y Diagnóstico* McGraw-Hill Interamericana. México. 1999; pp53-62

14. Klippel J. Principios de las Enfermedades Reumáticas 11ed. Editorial Pfizer Atlanta USA. 1997; pp179-180.
15. Figueroa P. *et al.* Manual de Enfermedades Reumáticas. Edit. Clamades. Madrid.1996; pp. 89-99.
16. Saraux *et al.* Value of antibodies to citrulline-containing peptides for diagnosing early rheumatoid arthritis. Berthelot JM, The Journal of rheumatology. 2003;30:2535-9.
17. Mejía Víctor. Artritis Reumatoide. Guatemala. Universidad de San Carlos. (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Médicas), 1980. pp.4-21.
18. Jensen Pamela. Signos Radiológicos de las enfermedades Reumáticas, Clínicas médicas de Norte América, Enfermedades Reumáticas, Editorial interamericana. México. 1990; pp. 389-405.
19. Vélez Hernán. *et al.* Fundamentos de Medicina Reumatológica. 5ta edición. Corporación para investigaciones biológicas. Colombia.2000; pp. 96-103.
20. Stites D. *et al.* Inmunología Básica y Clínica. 8va edición. Manual moderno. México 1996; pp.500-511.
21. Balcells Alfonso. La Clínica y el Laboratorio. Interpretación de Análisis y Pruebas de Laboratorio Funcionales. Décimo octava edición Editorial Masson Barcelona-Madrid. pp.594-597.
22. Beeson Paul. McDermott Walsh. Tratado de Medicina Interna Cecil-Loeb. Tomo III. Editorial interamericana México. 1995;pp.580-900.
23. Ratapää Solbrit. *et al.* Antibodies Against Cyclic Citrullinated Peptide and IgA Rheumatoid Factor predict the Development of Rheumatoid Arthritis. Arthritis and rheumatism vol.48, American College of Rheumatology No.10. October 2003; pp.2741-2749.
24. Vossenaar Erick *et al.* Citrullination of synovial Proteins in Murine Models of Rheumatoid Arthritis. Magazine Arthritis and Rheumatism vol.48, No. 9 American College of Rheumatology. September 2003; pp.2489-25000.
25. Lee DM. *et al.* Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with Rheumatic diseases. Annals of Rheumatism Diseases 2003; 62:870-4.
26. Ratas JM. *et al.* Recombinant Human Monoclonal Autoantibodies Specific for Citrulline-containing Peptides from Phage Display Libraries Derived from

- Patients with Rheumatoid Arthritis. *J. Rheumatol.* August 2003; 30: 1696-711.
27. Majka Darey. Holers Michael. Can we accurately predict the development of Rheumatoid Arthritis in the preclinical phase. *Arthritis & Reumatism. The Journal of the American College of Rheumatology. Arthritis y Rheumatism* Vol. 48 No. 10 October 2003; pp. 2701-2705.
 28. Suzuki K. *et al.* High Diagnostic Performance of ELISA Detection of Antibodies to Citrullinated Antigens in Rheumatoid Arthritis. *Journal of Rheumatology.* 2003; 32 pp. 197-204.
 29. Huber, W. Robinson, WH. Autoantibodies early Arthritis: Advances in diagnosis and prognosis *Clin. Exp Rheum* 2003; 21pp. 59-64.
 30. Bizzaro N. Manzzanti G. Tonutti E. Diagnostic Accuracy of anti-Citruline Antibody Assay for Rheumatoid Arthritis. *Clinical Chemistry* 2001; 47:1080-1093.
 31. Aho D. *et al.*, Antifilaggrin antibodies within Normal range predict Rheumatoid Arthritis in a linear fashion. *J. Rheumatol.* 2000; 27:2713-2716.
 32. Kroth, E. *et al.* The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism* 2000;43: 1831-1835.
 33. Bas S. Genevay S. Meyer O. Gabay C. Anti-Cyclic citrullinated peptide antibodies, IgM and IgA rheumatoid factors in the diagnosis and prognosis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology Journals.org. (Oxford)* May 2003;42 :677-80.
 34. Ruiz-Alegria C, López-Hoyos M. Antibodies in the Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. Utility of anti-cyclic citrullinated peptides. *Medicine Clinic (Barc)* Nov 2003;8:121: 619-24.
 35. Cush John. Kavaniaugh Arthur. *Diagnóstico y Terapéutica Reumatológica.* Edit. Lippincolt Estados Unidos. 1999; pp.332-331.
 36. Kelley, William M.D *et al.* Text book of Rheumatology. W.B.Saunders Company Philadelphia, USA. 1988; pp.354,885-1013.
 37. Rosenstein Emilio. *Diccionario de especialidades farmacéuticas* Editorial Ultra S.A. México DF. 1999; pp.303-305.
 38. Roe Robert. *Farmacoterapia en enfermedades Reumáticas, Clínicas de Norte América, Interamericana, México.* 1999; pp.405-419.

39. Friedman Harold. Manual de Diagnóstico Médico, editorial Salvat, México, 1997; pp.403-404.
40. Meyer O. *et al.* Anticitrullinated Protein Peptide Antibody Assays in Early Rheumatoid Arthritis for Predicting Five Year Radiographic damage. *Ann. Rheum. dis.* 2003; 62; 120-126.
41. Documento No. E-23-004602. Immunoscan RA (Mark2) Catalogo RA =96 (Anti-CCP); Eurodiagnostica. Septiembre 2003; pp.1-10.
42. Meier Elke. A Short guide to Rheumatoid Arthritis. 2da edition. Ed. Sweden diagnostics.2005; 11-25.
43. Avila Luz ,Londoño Darío, Cardona Angie. Valores de referencia de los anticuerpos anti-citrulina y Factor Reumatoideo en un grupo de individuos del Hospital Militar Central de Colombia. *Revista colombiana de Reumatología.* Septiembre 2004;11:201-208.

XIII. ANEXOS

Anexo 1.

Carta de consentimiento

DETERMINACION DE ANTICUERPOS ANTI-PROTEINAS CITRULINADAS EN SUERO DE PACIENTES CON SOSPECHA O CON DIAGNOSTICO ESTABLECIDO DE ARTRITIS REUMATOIDEA.

Asociación Guatemalteca Anti Enfermedades Reumáticas (AGAR), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad San Carlos de Guatemala.

Identificación: Este estudio es conducido por el Lic. Herberth Arévalo (Químico Biólogo, Jefe de laboratorio clínico AGAR), Dr. Abraham García Kutzbach (médico reumatólogo, director de la institución) y por la tesista Br. Claudia Lucrecia Motta. Usted tiene la posibilidad, de participar en forma voluntaria en la investigación, la cual se ha enfocado en pacientes con Artritis Reumatoidea.

Procedimiento: Se le realizará una entrevista para poder completar la recolección de datos necesarios, además se le solicita consentimiento para revisar su historial médico, la entrevista se le hará al momento de la toma de muestra de sangre venosa. Si usted acepta participar, la información obtenida será parte de su historia clínica y de carácter confidencial.

Beneficios: Si desea participar, recibirá información acerca del tratamiento más apropiado al confirmarse o no (con los resultados obtenidos de la prueba) el diagnóstico de su afección y dicha información se adjuntará a su expediente clínico.

Participación voluntaria. Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Usted puede decidir no ser parte del mismo, o salir de él en cualquier momento sin ningún prejuicio para su tratamiento médico.

Consentimiento: Yo reconozco que la participación en este estudio será voluntaria y estoy de acuerdo con lo expuesto en los incisos anteriores, por lo cual, autorizo a los investigadores el empleo de la información obtenida en el formulario de recolección de datos y concedo acceso al archivo médico correspondiente que se encuentra en esta institución.

Nombre del paciente.

Firma del paciente.

Fecha: _____

ANEXO 2.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

DETERMINACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-PROTEINAS
CITRULINADAS EN SUERO DE PACIENTES CON SOSPECHA O CON
DIAGNOSTICO ESTABLECIDO DE ARTRITIS REUMATOIDEA.

1. Número: _____ Fecha: _____
2. Número de Expediente: _____
3. Nombre: _____
4. Edad: _____
5. Sexo: M
F
6. Estado Civil: Casado
Soltero
Unido
Viudo
7. Duración de la Enfermedad:
- Menor de 1 mes
De 1 a 3 meses
De 4 a 6 meses
De 7 a 12 meses
Mayor a 12 meses

8. Criterios Diagnósticos de acuerdo con la ACR

8.1 Clínicos y Radiológicos:

Criterio	Rigidez Matutina	Artritis de 3 o más articulaciones	Artritis de Articulaciones de la Mano	Nódulos Reumatoideos	Artritis Simétrica	Cambios Radiológicos
Si	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
No	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Observaciones: _____

8.2 De Laboratorio:

- Factor Reumatoideo (FR)

Título	Negativo	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	> 1:64
Concentración UI/ml	< 20	20	40	80	160	320	640	1280	> 1280
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- Anticuerpos Anti-Péptidos Cíclicos Citrulinados (anti-CCP)

Resultado	Concentración U/ml
Negativo <input type="checkbox"/>	
Zona gris <input type="checkbox"/>	
Positivo <input type="checkbox"/>	

Dirección: _____

Teléfonos: _____

f) _____
Pacientef) _____
Entrevistador
Tesisista.

Anexo 3.

BASE DE DATOS INFORME ANTICUERPOS ANTI-CCP, FR y Dx							
Correlativo	No.de expediente	Edad	Numero de criterios ACR cumplidos	Años de padecer sintomas	Anti CCP (U/ml)	FR (UI/ml)	Dx
1	404	43	C	2	499	160	AR
2	1566	50	5	2	310	320	AR
3	334	48	6	2	549	320	AR
4	379	52	5	2	54	80	AR
5	520	50	6	2	179	640	AR
6	1392	41	5	2	210	160	AR
7	1446	53	4	2	40	Menor a 20	AR
8	167	66	6	2	80	20	AR
9	287	27	6	1	364	320	AR
10	172	64	5	1	626	160	AR
11	151	43	5	2	35	80	AR
12	1532	76	5	2	0	Menor a 20	AR
13	456	49	4	2	174	Menor a 20	AR
14	270	29	6	7 meses	684	160	AR
15	1419	48	4	1	25	Menor a 20	AR
16	1301	54	4	2	1600	80	AR
17	741	52	2	2	160	Menor a 20	AR
18	747	42	5	7 meses	26	320	AR
19	877	37	5	2	32	Menor a 20	AR
20	765	24	6	2	780	Menor a 20	AR
21	905	21	7	2	28.5	320	AR
22	145	65	6	2	759	Menor a 20	AR
23	34	63	4	2	73	160	AR

24	1490	58	7	2	270	2560	AR
25	1411	71	7	2	1600	320	AR
26	1266	61	6	1	450	Menor a 20	AR
27	1257	69	7	2	2025	Menor a 20	AR
28	1240	54	6	1	850	320	AR
29	1232	61	6	2	1325	320	AR
30	793	57	3	2	35	Menor a 20	AR + escleroderma
31	1429	71	5	2	60	Menor a 20	AR + HTA
32	42	67	5	2	286	320	AR + HTA
33	1408	32	4	2	71.42	Menor a 20	AR + HTA
34	1322	52	7	2	842	160	AR + HTA
35	1251	41	5	3 meses	200	160	AR + HTA
36	82	62	6	1	660	160	AR + LES
37	1355	42	6	2	0.25	320	AR + LES
38	1420	49	6	1	710	80	AR + LES
39	1547	40	7	1	850	640	AR + LES
40	1498	39	5	1	36.67	Menor a 20	AR + LES
41	1635	40	4	2	462	1280	AR + OAD
42	1416	37	6	2	356	Menor a 20	AR + OAD
43	169	54	4	2	60	Menor a 20	AR + OAD
44	1566	50	6	2	416	320	AR + oligoartralgia
45	165	49	6	2	1600	320	AR + osteopenia
46	271	52	7	1	564	160	AR + osteopenia
47	1559	43	7	2	50	160	AR + osteopenia
48	1560	76	4	2	400	160	AR + osteopenia
49	1380	65	6	2	92.8	2560	AR + osteopenia
50	829	59	4	2	210	Menor a 20	AR + SS + HTA
51	1315	47	5	2	210	Menor a 20	AR+ SS
52	1449	48	2	2	0	Menor a 20	AR
53	519	49	3	2	0	Menor a 20	Artritis Reactiva
54	1552	57	6	2	25	40	Artritis Reactiva

55	30	24	2	2	0	40	Artritis Reactiva
56	1401	36	6	7 meses	10	80	Artritis Reactiva
57	1337	48	1	2	0	Menor a 20	Artritis Reactiva
58	1331	32	1	2	0	Menor a 20	Artritis Reactiva
59	1589	40	1	11 meses	0	Menor a 20	Artritis Reactiva + Poliartralgia
60	1426	50	1	3 meses	0	Menor a 20	FMS
61	107	52	6	2	0	80	gota + HTA
62	1567	49	3	2	0	Menor a 20	HTA
63	58	50	2	2	0	Menor a 20	HTA
64	1323	52	2	1	0	Menor a 20	HTA
65	446	37	4	2	0	Menor a 20	HTA + osteopenia
66	1437	23	4	1	0.01	Menor a 20	LES
67	38	80	3	2	0.01	Menor a 20	LES
68	1422	49	3	1	0	Menor a 20	LES + Artritis Reactiva
69	1311	50	3	1	0	Menor a 20	LES, HTA
70	1	70	3	1	0	Menor a 20	OAD
71	1568	65	4	2	0	Menor a 20	OAD
72	149	51	4	2	0	Menor a 20	OAD
73	138	66	4	1	0	Menor a 20	OAD
74	1351	52	4	2	0.01	Menor a 20	OAD
75	1445	50	2	2	0.01	Menor a 20	OAD
76	878	51	5	2	0.01	Menor a 20	OAD
77	1436	49	3	2	0	Menor a 20	OAD
78	60	45	4	1	0	Menor a 20	OAD
79	733	78	4	2	10	Menor a 20	OAD + Artritis Reactiva
80	1364	74	2	5 meses	0.01	Menor a 20	OAD + HTA
81	273	53	4	2	Negativo	Menor a 20	Osteopenia
82	264	40	4	3 meses	0	Menor a 20	Osteopenia
83	359	31	4	2	0	Menor a 20	Osteopenia
84	21	36	2	2	6.67	Menor a 20	Osteopenia
85	1431	45	5	1	0	Menor a 20	Osteopenia

86	1553	54	5	2	0	Menor a 20	Osteopenia
87	1460	60	4	1	0	Menor a 20	Osteopenia
88	217	72	5	2	0	Menor a 20	Osteoporosis
89	1514	38	3	1	0	Menor a 20	Osteoporosis
90	459	47	3	4 meses	0	Menor a 20	Osteoporosis
91	457	33	4	1	0	Menor a 20	Poliartritis
92	159	36	2	7 meses	0	Menor a 20	RPB
93	1377	61	4	2	0	Menor a 20	RPB
94	1412	50	4	2	0.01	Menor a 20	RPB
95	1416	50	3	1	0	Menor a 20	RPB, Tendinitis
96	1602	43	3	4 meses	0	Menor a 20	SS
97	420	38	3	1	0	Menor a 20	Tendinitis
98	1297	57	1	2	0	Menor a 20	Tendinitis
99	1699	48	1	3 meses	0	Menor a 20	Tendinitis
100	349	57	1	2	0	Menor a 20	Tendinitis
101	1427	35	2	1	0	Menor a 20	Tendinitis
102	316	25	4	4 meses	0	Menor a 20	Tendinitis
103	160	44	3	2	0	Menor a 20	Tendinitis
104	1556	53	5	5 meses	0	Menor a 20	Tendinitis
105	844	44	5	2	0	Menor a 20	Tendinitis
106	848	49	5	5 meses	0.01	Menor a 20	Tendinitis + OAD
107	1463	52	2	2	0	Menor a 20	Uveitis
108	18	60	4	2	0	80	Vasculitis

Fuente: Datos experimentales.

RPB: Rigidez de partes blandas

AR: Artritis Reumatoidea.

OAD: Osteoartritis degenerativa.

HTA: Hipertensión arterial.

LES: Lupus eritematoso sistémico

SS: Síndrome de Sjögren

Valores de referencia:

anticuerpos anti-CCP Positivo: Mayor a 25 U/mL

Negativo: Menor a 25 U/mL

Factor Reumatoideo: Menor a 20 UI/mL

