

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA EN PACIENTES CON
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ENFERMEDADES ASOCIADAS

GABRIELA ANAITÉ RAXCACÓ RODAS

Química Bióloga

Guatemala, Mayo de 2007

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA EN PACIENTES CON
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ENFERMEDADES ASOCIADAS

Informe de Tesis

Presentado por
GABRIELA ANAITÉ RAXCACÓ RODAS

Para optar al Título de
Química Bióloga

Guatemala, Mayo de 2007

INDICE

I.	Resumen	01
II.	Introducción	03
III.	Antecedentes	04
A.	Síndrome Antifosfolipidico	04
1.	Historia	04
2.	Definición	04
3.	Anticuerpos Antifosfolipidicos y B2-Glicoproteína I	05
4.	Fisiopatología	06
5.	Diagnóstico	07
6.	Clínica	09
7.	Tratamiento	11
B.	Enfermedades Reumáticas	12
1.	Lupus Eritematoso Sistémico	12
2.	Artritis Reumatoide	16
3.	Síndrome de Sjögren	17
4.	Esclerosis Sistémica	18
C.	Diagnóstico de Anticuerpo Anticardiolipina	19
D.	Diagnóstico de Anticoagulante Lúpico	20
IV.	Justificación	23
V.	Objetivos	24
VI.	Hipótesis	25
VII.	Materiales y Métodos	26
VIII.	Resultados	32
IX.	Discusión de Resultados	42
X.	Conclusiones	44
XI.	Recomendaciones	45
XII.	Referencias	46
XIII.	Anexos	50

ACTO QUE DEDICO

A DIOS:

Porque todos tenemos una misión en la vida y Él es el único que nos puede guiar para cumplirla.

A LA VIRGEN MARÍA:

Por acompañarme durante mi camino, para cumplir esa misión.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Especialmente a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

A MIS PADRES:

Lucila Rodas Gramajo de Raxcacó y Fidel Raxcacó González

Por enseñarme, con su ejemplo, a ser mejor persona cada día.

A MI HERMANA

Vera Lucía Raxcacó Rodas.

Por su apoyo y compañía en las madrugadas.

A MIS ABUELOS:

Cirilo Rodas de León †

Concepción Raxcacó †

Florinda Gramajo †

Porque se que desde el cielo me guían. Y Gudelia González por ser su representante desde la tierra.

A MIS TIOS:

Con cariño.

A MIS PRIMOS:

Por cada juego. Especialmente a Ana Elisa Calderón y Flor de María Rodas.

A MIS AMIGOS:

Por brindarme su amistad y su cariño.

AGRADECIMIENTOS

Al Hospital General San Juan de Dios, especialmente al Laboratorio Clínico y a la consulta externa de Reumatología.

A los Médicos Reumatólogos: Mayra Cifuentes y Hugo Morales.

A las Químicas Biólogas: Licda. Karla Escobar, Licda. Paola Bolaños y Licda Rebeca Méndez, por brindarme su apoyo en la realización de este trabajo.

A la Br. Irisa Gómez. Por el apoyo incondicional que siempre me brindo.

A: Luis Santos, Claudia Marroquín, Lucía Roesch, Ligia Castro, Cesar Conde, Cesar Davila, Víctor Corado y Guisela Joachin.

A los Revisores de esta investigación Licda. Alba Marina Valdés de García, MSc.Vivian Matta, Licda. Kenia Caballeros, Lic. Mario González.

I. RESUMEN

El síndrome antifosfolipídico (SAF) es un desorden caracterizado por la pérdida repetida de embarazos, eventos tromboembólicos y por la persistencia de anticuerpos antifosfolipídicos (AAF) circulantes. Los AAF son autoanticuerpos de origen heterogéneo que por lo general actúan sobre los fosfolípidos presentes en la membrana de la célula. Entre los AAF mayormente asociados con el SAF se encuentran el anticoagulante lúpico (AL) y los anticuerpos anticardiolipina (ACA).

El lupus eritematoso sistémico (LES), es una enfermedad de origen autoinmune, que fue relacionada con el SAF a principios de los años ochenta. Otras enfermedades como la artritis reumatoidea (AR), Síndrome de Sjögren (SS) y esclerosis sistémica (ES), también de origen autoinmune, no han sido relacionadas con el síndrome.

El presente estudio determinó la prevalencia de ACA en los pacientes que asisten a las Clínicas de Reumatología de la Consulta Externa del Hospital General San Juan de Dios, encontrando características clínicas asociadas a la existencia de estos anticuerpos y se proporcionó evidencia para introducir la prueba de ACA en pacientes con enfermedades reumáticas dentro del panel de pruebas reumáticas de rutina.

Se reclutó un total de 189 pacientes que asistieron a las Clínicas de Reumatología de la Consulta Externa del Hospital General San Juan de Dios, del 15 de febrero al 15 de abril del 2006. Se solicitó su autorización para participar en dicho estudio y se les sometió a una entrevista relacionada con el tema. Las muestras fueron transportadas al laboratorio clínico del Hospital General San Juan de Dios donde fueron procesadas. La determinación de los ACA se realizó en suero utilizando el inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) (QUANTA Lite™ ACA IgM III y QUANTA Lite™ ACA IgG III). Se obtuvo una prevalencia de 12.7 por ciento de ambas ACA en los pacientes que ingresaron al estudio. La prevalencia de ACA IgG que se encontró en los pacientes fue de 32.3 por ciento mientras que la de ACA IgM fue de 24.9 por ciento, ambas prevalencias se realizaron con un IC 95%, los intervalos de confianza son para ACA IgG de 24.64, 38.96, mientras que los de IgM son de 18.75, 31.05.

Los resultados fueron reportados al médico tratante, el cuál asignó tratamiento para prevenir cualquier evento trombótico, dependiendo del resultado y del estado clínico del paciente.

II. INTRODUCCIÓN

El síndrome antifosfolípido (SAF) es un estado de hipercoagulabilidad adquirido de origen autoinmune, descrito por Hughes. Este ha tenido una presencia importante en las últimas dos décadas en Europa, ya que ahí se describió por primera vez y se observó la relación que éste presenta con otras entidades clínicas como el lupus eritematoso sistémico (LES) (1, 2). Además del LES, las enfermedades reumáticas son algunas de las que se han relacionado con el síndrome, por su naturaleza autoinmunológica.

Para diagnosticar el síndrome se han establecido criterios clínicos mayores y menores, así como pruebas confirmatorias. Uno de los criterios confirmatorios es la presencia de anticuerpos anticardiolipina (ACA). Los ACA son una combinación de las inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA. La IgG es la clase que más prevalece y la que tiene mayor correlación clínica (2-4).

La cuantificación de estos anticuerpos es importante en pacientes con enfermedades reumáticas debido a que son cuatro veces más susceptibles de sufrir eventos tromboembólicos que aquellos que no las padecen(4).

Para llevar a cabo este estudio, se tomó una muestra de sangre a ciento ochenta y nueve personas que padecen de alguna enfermedad reumática y que asistieron al Hospital General San Juan de Dios (HGSJD) a su consulta. A dichas muestras se les realizó la cuantificación de anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM mediante un ensayo inmunoenzimático (EIA). Se determinaron las características clínicas que presentaban los pacientes con títulos mayores de veinte unidades de anticuerpos anticardiolipina, por ejemplo, haber perdido un hijo por aborto espontáneo en el caso de las mujeres o padecer de alguna enfermedad cardíaca, entre otros, además se informó al médico tratante del título de dichos anticuerpos para realizar pruebas más específicas del SAF.

III. ANTECEDENTES

A. Síndrome Antifosfolípídico (SAF):

1. Historia:

En 1906 Wassermann descubrió la reagina asociada a la sífilis, este fue el primer anticuerpo antifosfolípídico que se relacionó con este síndrome (5). En 1952 Conley y Hartmann describen por primera vez la asociación entre un anticoagulante circulante y lupus eritematoso sistémico (LES) (5). Sin embargo, la primera descripción clínica fue un caso reportado por Johansson en 1977 con un título largo: “un síndrome vascular periférico similar al LES con trombosis venosa recurrente y proliferación hemorrágica capilar con anticoagulantes circulantes y serología falsa positiva para sífilis” (5). En 1983, Hughes y su grupo de investigadores en Londres describieron un síndrome clínico complejo con la presencia de anticuerpos séricos dirigidos contra fosfolípidos, en particular contra la cardiolípidina. Debido a esto, el síndrome se conoció con dos nombres: Síndrome Anticardiolipina ó “Síndrome de Hughes”. Desde las primeras descripciones, los investigadores intentaron clasificar a los pacientes en subgrupos de LES o de “Síndromes lupoides”. El síndrome antifosfolípídico puede ser primario si no forma parte del cuadro clínico de ninguna otra enfermedad autoinmune, en el 50 por ciento de los casos, o secundario si se asocia a la presencia de otras enfermedades autoinmunes, aunque también puede presentarse asociado con algunas enfermedades infecciosas (2, 5, 6).

En 1987 debido a la observación de Harris y Gharavi se dejó de utilizar el término de Síndrome anticardiolipina ya que estos anticuerpos también reaccionaban con otros fosfolípidos (4).

2. Definición:

El síndrome antifosfolípídico (SAF) es un estado de hipercoagulabilidad adquirido de origen autoinmune, que se debe a la presencia en la sangre de anticuerpos dirigidos contra el complejo protrombina-fosfolípido o factores de coagulación-fosfolípido que afectan la conversión de la primera en trombina y la activación de los segundos. Se manifiesta con la aparición de trombosis arteriales o venosas, pérdidas fetales recurrentes, trombocitopenia moderada y la presencia en el suero de anticuerpos antifosfolípidos (AAF), ya sea anticoagulante lúpico (AL), anticuerpos anticardiolipina (ACA) o ambos. Estos

autoanticuerpos no son solamente marcadores serológicos del síndrome sino al parecer juegan un papel patogénico importante (1, 7-9).

3. Anticuerpos Antifosfolipídicos y B2 Glicoproteína I:

Los AFF son una familia compleja y heterogénea de anticuerpos detectables por inmunoensayos de fase sólida o mediante pruebas de coagulación dependientes de fosfolípidos (10).

Los anticuerpos antifosfolipídicos se clasifican en 4 tipos diferentes:

- a. Anticuerpo antifosfolipídico que da falsos positivos para sífilis Venereal Disease Research Laboratory ó VDRL, que ha sido asociado con enfermedades autoinmunes e infecciosas (4).
- b. Anticuerpos antifosfolipídicos en pacientes con LES con predisposición o no a la hemorragia, y aparente predisposición a la trombosis; en estos se propuso el término anticoagulante lúpico (AL). Los AL's son inmunoglobulinas (IgG-IgA-IgM), que reaccionan con un fosfolípido de la pared plaquetaria (factor 3 plaquetario), inhibiendo la generación del complejo activador de la protrombina. A pesar de esta actividad anticoagulante de tipo heparínico, la expresión clínico-biológica es el fenómeno trombótico (4, 10).
- c. Anticuerpos anticardiolipinas que son identificados por ensayos en fase sólida (RIA o EIA), usando como antígeno cardiolipina bovina (4).
- d. Ciertos cofactores proteicos que modulan la interacción fosfolípidos-anticuerpos entre los cuales está la **beta 2 glicoproteína-(beta 2 GPI) o apolipoproteína H**. Esta es rica en prolina y capaz de unirse a estructuras macromoleculares cargadas negativamente como los fosfolípidos, ADN o heparina. Dichos cofactores deben estar presentes para que los anticuerpos se unan a la cardiolipina, además producen un aumento de la unión de estos a los fosfolípidos (4).

4. Fisiopatología:

Se desconoce el mecanismo exacto por el cual los anticuerpos antifosfolipídicos inducen el fenómeno trombótico; se sabe que estos anticuerpos interactúan con la cascada de la coagulación y en última instancia con el estado de hipercoagulabilidad (11). Estos anticuerpos conforman un grupo heterogéneo que se asocia con múltiples manifestaciones clínicas incluyendo diferentes cuadros neurológicos, ya que se dirigen contra fosfatidilserina, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol y ácido fosfatídico. Se ha planteado que el mecanismo de la trombosis obedece a que los anticuerpos inhiben reacciones en la cascada de la coagulación catalizadas por fosfolípidos cargados negativamente y que además presentan interacción entre estos y activadores antigénicos sobre las plaquetas, células endoteliales y componentes de la cascada de la coagulación. Afectar la activación del factor X, la conversión protrombina-trombina, activación de la proteína C y la inactivación del factor Va induciendo un estado protrombótico. Podría afectar igualmente la síntesis de tromboxano por las plaquetas, inhibiendo la síntesis de prostaciclina y activando células endoteliales que regulan la expresión de moléculas de adhesión, la producción de factores tisulares por células endoteliales como la endotelina-1, la secreción de citoquinas proinflamatorias y la modulación del metabolismo del ácido araquidónico; afecta la proteína S (6).

Otra hipótesis postula que en presencia de anticuerpos antifosfolipídicos y existiendo un defecto subyacente endotelial se disparan las complicaciones trombóticas, a esta hipótesis se le conoce como Segundo golpe, (hit), ya que es necesario la presencia de dos factores para que se produzca el efecto, que en este caso sería la trombosis. Se ha descrito la interacción de los anticuerpos con la anexina V (proteína I anticoagulante placentaria), lo que la disminuye y favorece los eventos trombóticos. Esta proteína actúa como tromboreguladora y al ser desplazada por los autoanticuerpos se desencadena el proceso trombótico describiéndose igualmente defectos en la placentación, que se traducen en una insuficiencia placentaria que resulta por trombosis de vasos placentarios, infartos y vasculopatía de las arterias espirales, que se encuentran localizadas en el útero y están compuestas por células epiteliales. Durante el embarazo las arterias espirales están revestidas por células trofoblásticas, debido a esto si existe disfunción en estas células existen problemas vasculares catastróficos (5, 11-13).

Clínicamente, puede presentarse de forma aguda (curso breve y relativamente grave) o crónica (curso prolongado). Existe una amplia variedad de manifestaciones clínicas con las que puede asociarse este síndrome: neurológicas, cardiológicas, hematológicas, dermatológicas, ginecológicas, etc. (12).

5. Diagnóstico:

Se han descrito criterios para el diagnóstico del síndrome antifosfolípido de acuerdo a sus características clínicas y a las pruebas de laboratorio. Entre las alteraciones inespecíficas de laboratorio se pueden encontrar: VDRL falsamente positivo, trombocitopenia, velocidad de eritrosedimentación acelerada (VSE), anticuerpos antinucleares (ANA) y anti ADN positivo (fundamentalmente en el SAF secundario) (3).

Además de lo anterior, también se solicitan tres tipos de pruebas: la que es de menor sensibilidad y especificidad identifica el anticuerpo para el antígeno de la sífilis, la más sensible pero menos específica detecta los anticuerpos para los fosfolípidos (test anticardiolipina) y la más específica pero menos sensible detecta el AL. Un valor de medio a alto positivo es más específico para el diagnóstico y decisiones clínicas pueden derivar de su hallazgo; siempre debe existir un cuadro clínico compatible para tener confiabilidad en el diagnóstico (12). Referente a los isotipos hay controversia, reconociéndoseles mayor patogenicidad a los anticardiolipina IgG e IgM. La presencia del anticoagulante lúpico nos predice eventos trombóticos mientras que los anticuerpos anticardiolipina nos anuncian complicaciones obstétricas; la utilidad de otros autoanticuerpos antifosfolípidos no cardiolipina y su asociación con eventos clínicos es más controversial por no existir consenso al respecto y por las múltiples especificidades para estos autoanticuerpos. El amplio espectro de especificidades antigénicas de los anticuerpos, especialmente de la anticardiolipina y el anticoagulante lúpico puede explicar la heterogenicidad de las manifestaciones clínicas. Los radiólogos deben familiarizarse con las manifestaciones trombóticas viscerales de la enfermedad que por sus características pueden orientar el diagnóstico (5).

El diagnóstico de este síndrome se establece únicamente cuando existe al menos un criterio clínico mayor y al menos una prueba confirmatoria positiva, estos se presentan en la tabla 1 (14):

Criterios Mayores	Pérdidas fetales recurrentes, trombosis venosas o arteriales, úlceras de miembro inferior, <i>livedo reticularis</i> , anemia hemolítica, trombocitopenia y altos niveles de Anticoagulante lúpico positivo.
Criterios menores	Migraña. Corea.
Diagnóstico definitivo	2 o más síntomas con alto título de anticuerpos antifosfolípidos.
Diagnóstico probable	<ul style="list-style-type: none"> • Una manifestación clínica y altos niveles de anticuerpos antifosfolípidos. • Dos o más manifestaciones clínicas con bajos títulos de anticuerpos antifosfolípidos.
Diagnóstico dudoso	<ul style="list-style-type: none"> • Anticuerpos antifosfolípidos altos. • Un síntoma clínico más títulos bajos de anticuerpos antifosfolípidos.

Fuente : Alarcon Segovia D, Cabral A: Antiphospholipid Antibodies. Where do They Come from? Where do They Go?. J Rheum 1994; 21(6): 982-89.

Criterios Mayores	Trombosis venosa: trombosis venosa profunda, embolia pulmonar, etc. Trombosis arterial: infarto cerebral, infarto de miocardio, etc. Aborto espontáneo Trombocitopenia.
Criterios menores	Alteraciones de las válvulas cardíacas Prueba de Coombs positiva <i>Livedo reticularis</i> Migraña Úlceras en las piernas Mielopatía Corea Hipertensión pulmonar Necrosis avascular (muerte de celular fuera de vasos sanguíneos)
Pruebas Confirmatorias	Anticuerpos anticardiolipina tipo IgG mayor a 20 unidades y/o IgM mayor a 20 unidades. Prueba de anticoagulante lúpico positiva (2)

Fuente: González H. Diagnóstico por laboratorio del Síndrome de Anticuerpos antifosfolípido.

<http://www.encolombia.com/reumatología-contenido.htm>. Junio 2004.

Los pacientes diagnosticados con SAF pueden clasificarse dentro de uno de los siguientes grupos dependiendo de la clínica que manifieste:

Tabla 3: SÍNDROME ANTIFOSFOLIPÍDICO Y TROMBOSIS		
Síndrome Trombótico Asociado a Anticuerpos Antifosfolípidos	Tipo I:	Trombosis venosa profunda con o sin tromboembolismo de pulmón.
	Tipo II:	Trombosis de arterias coronarias. Trombosis de arterias periféricas. Trombosis aórtica. Trombosis de arterias carótidas.
	Tipo III:	Trombosis de arteria retiniana. Trombosis de vena retiniana. Trombosis cerebrovascular. Accidente Isquémico Transitorio.
	Tipo IV:	Superposición de los tipos I, II y III (poco frecuente).
Síndrome Asociado a Pérdida de Embarazo		Trombosis vascular placentaria. Trombocitopenia materna (poco frecuente). Pérdida del embarazo en el primer trimestre (frecuente). Pérdida del embarazo en el segundo o tercer trimestre (menos frecuente).

Fuente: Bick, R. y Barcker W. Síndrome antifosfolípido en pacientes críticos clasificación del síndrome antifosfolípido asociado a trombosis. http://www.drwebsa.com.ar/smiba/revista/smiba_03/antifosfolo7.htm. Junio 2004.

Este último grupo se refiere a la combinación de dos de los grupos o superposición de los tipos del I-III. Este grupo es de baja frecuencia. Aunque no parece relevante el subtipo de anticuerpo que se determine o la cantidad que exista del mismo, si es de gran importancia la subclasificación en los distintos grupos (I a IV) con respecto a la localización de la trombosis desde el punto de vista terapéutico (3).

6. Clínica:

La trombosis que resulta del síndrome antifosfolípido puede afectar vasos de cualquier tamaño y la lesión histológica característica es un trombo blando (sin datos de

inflamación) que suele ser la principal complicación de este síndrome. Las lesiones pueden aparecer a nivel venoso, afectando más frecuentemente las venas profundas o superficiales de las piernas o a nivel arterial, en cuyo caso lo más común es el infarto cerebral, renal, placentario y pancreático; también puede producirse trombosis en el ventrículo derecho del corazón, siendo entonces frecuente que se produzca una embolia pulmonar que puede llegar a producir una insuficiencia respiratoria del adulto. En las embarazadas, las lesiones trombóticas en la placenta, son la causa de abortos espontáneos frecuentes y suelen aparecer en el segundo o tercer trimestre observándose en el 15-75 por ciento de mujeres con anticuerpos antifosfolipidicos positivos. Una manifestación típica desde que aparece la enfermedad es la trombocitopenia que suele ser transitoria, generalmente no se asocia con sangrado visible y se desconoce la causa, si bien se acepta que se relaciona con la presencia de los autoanticuerpos antifosfolipídicos, aunque no con los niveles de los mismos (15-19).

Las enfermedades autoinmunes como el LES se asocian con un aumento en el riesgo de aborto, así más del 30 por ciento de mujeres con LES tienen AAF circulantes (19, 22-23).

Tabla No. 4. Prevalencia de anticuerpos antiposfolipidicos en diferentes poblaciones obstétricas:

Población	Porcentaje de AAF positivo
Primigestantes normales	5-24
Pacientes con LES	30-40
Pérdida fetal recurrente	16-38
Preeclampsia	25

Fuente: Boklage CE. Survival probability of human conceptions from fertilization to term. Int J Fertil. 1990; 35:189-194.

Estudios realizados en Guatemala por Galich y Franco, demuestran que las mujeres embarazadas con un aborto previo tienen aproximadamente 78 por ciento de probabilidad de llevar su embarazo a término, mientras que mujeres con tres abortos previos tienen tan solo 25 por ciento de probabilidad de llevarlo a término (20-22).

Alrededor del 80 por ciento de las pacientes con AAF y muerte fetal muestran evidencia de trombosis e infarto placentario (24 -25)

También puede producir migraña (accesos de cefaleas, dolores de cabeza, intensas con mayor frecuencia unilateral y localizados en las regiones temporal y occipital, acompañados de malestar general, náuseas y vómitos), pérdida de memoria y alteraciones cutáneas como úlceras (lesión circunscrita en forma de cráter que afecta a la piel o las mucosas producida por la necrosis asociada a algunos procesos inflamatorios, infecciosos o malignos) (Anexo 1-2), *livedo reticularis* (livideces difusas que dan a la piel un aspecto aspeado y de forma reticular) (6)

El síndrome antifosfolipídico presenta manifestaciones (en variedad de sistemas y aparatos) como las siguientes: endocrinas, pulmonares, cardiopulmonares, digestivas, renales, hematológicas, cutáneas. Además se ha relacionado con variedad de enfermedades entre las que se pueden mencionar: miastenia gravis (MG), manifestaciones oculares, síndrome catastrófico, psitacosis, infección por *Mycoplasma*, adenovirus, rubeola, varicela, parotiditis, malaria, enfermedad de Lyme (26).

7. Tratamiento:

El tratamiento del SAF ha evolucionado a través del tiempo creándose guías que han adecuado conforme avanza el conocimiento de la enfermedad. Se sugirió inicialmente aspirina 75-100/mg al día para pacientes asintomáticos pero con pruebas positivas del AL o el anticuerpo anticardiolipina. Si ya se presentó un episodio de trombosis la terapia es anticoagulación por tiempo corto con warfarina. Sin embargo si el paciente presenta situaciones de riesgo la elección es heparina; si existen antecedentes de múltiples trombosis, se recomienda, aspirina y warfarina; y si se presenta oclusión arterial, aspirina (27-28). La educación del paciente es necesaria para el éxito del tratamiento. El diagnóstico temprano es fundamental y en el manejo agudo de la trombosis se requiere inmediata anticoagulación. En la actualidad, el tratamiento de los pacientes con síndrome antifosfolipídico depende de los títulos de anticuerpo: los pacientes con anticuerpos antifosfolípidos a bajos títulos, sin historia previa de trombosis o asintomáticos, no tendrían incrementado el riesgo, por lo tanto la anticoagulación profiláctica no estaría justificada. Aquellos pacientes asintomáticos pero con altos títulos de anticuerpos tendrían indicación de aspirina a bajas dosis. En los

pacientes con historia previa de trombosis y sintomatología asociada, se debe instaurar tratamiento anticoagulante oral o mediante heparina de bajo peso molecular. Dependiendo del tipo de síndrome que el paciente presente así es el tratamiento al que hay que acudir (Anexo 3) (5, 29).

B. Enfermedades Reumáticas:

La mayoría de los trastornos reumatológicos son de naturaleza inmunitaria, lo que marca el inicio del síndrome antifosfolípido. Es entonces esencial conocer el curso que lleva la enfermedad reumática para así conocer las complicaciones que se podrían presentar al momento del diagnóstico del síndrome antifosfolípido.

1. Lupus Eritematoso Sistémico:

El lupus eritematoso sistémico (LES), es la primera enfermedad con la que se relacionó el SAF. Él LES es el prototipo clásico de enfermedad multisistémica de causa autoinmunitaria que se caracteriza por un desconcertante conjunto de autoanticuerpos, en especial anticuerpos antinucleares (ANA). Él LES posee un comienzo agudo o insidioso, se hace crónico con remisiones y reactivaciones, es a menudo febril y se caracteriza principalmente por lesiones en piel, articulaciones, riñón y membranas serosas. La presentación clínica del LES es tan variable que la Asociación Americana de Reumatología desarrolló criterios para su diagnóstico (Tabla 5). Al igual que la mayoría de las enfermedades autoinmunitarias, el LES afecta en mayor medida a la mujer, con una frecuencia de 1 por cada 700 mujeres en edad fértil y con una relación mujer:varón de 9:1. Como comparación, cuando la enfermedad se desarrolla durante la infancia o después de los 65 años, esta relación es de 2:1. (9, 30).

Las principales características inmunitarias del LES son: Presencia de anticuerpos antinucleares, antiDNA de doble hebra (ds DNA) y anti Sm, disminución de los valores del complemento, depósitos de complejos inmunes y complemento a lo largo de la membrana basal glomerular y la unión dermoepidérmica (31, 32).

La causa del LES sigue siendo desconocida, pero la existencia de un número aparentemente ilimitado de anticuerpos dirigidos contra componentes propios indica que el defecto fundamental es el fracaso de los mecanismos de regulación que mantienen la autotolerancia.

Tabla 5. Revisión de 1997 de los criterios para la clasificación del Lupus Eritematoso Sistémico

CRITERIO	DEFINICIÓN
1. Erupción Malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las prominencias malares, que tiende a respetar los surcos nasolabiales
2. Erupción Discoide	Placas eritematosas elevadas con descamación queratósica adherente y comedones, las lesiones más antiguas pueden mostrar cicatrización atrófica.
3. Fotosensibilidad	Erupción cutánea secundaria a una reacción anormal a la luz solar, según la anamnesis o la observación del médico
4. Úlceras bucales	Ulceración oral o nasofaríngea, generalmente indolora, observada por un médico.
5. Artritis	Artritis no erosiva que afecta a dos o más articulación periféricas, caracterizada por dolor con la palpación, tumefacción o derrame.
6. Serositis	Pleuritis: Historia convincente de dolor pleurítico o roce pleural auscultado por un médico o signos de derrame pleural, o Pericarditis: Demostrada por electrocardiograma, roce pericárdico o signos de derrame pericárdico.
7. Enfermedad Renal	Ploteinuria persistente > 0.5 g/dl o >3+ si no se cuantifica, o Cilindros celulares: eritrocitarios, de hemoglobina, granulares, tubulares o mixtos.
8. Enf. Neurológica	Convulsiones: en ausencia de agentes provocadores o trastorno metabólico conocido, p. ej. Uremia, cetoacidosis o des equilibrio electrolítico. O Psicosis: en ausencia de agentes provocadores o trastorno metabólico.
9. Enf. Hematológica	Anemia hemolítica: con reticulocitosis, o <ol style="list-style-type: none"> Leucopenia: < 4.0 x10⁹/L (4000/mm³)total en dos o más ocasiones, o Linfopenia: <1.5 x10⁹/L (1500/mm³)total en dos o más ocasiones, o Trombocitopenia <100 x10⁹/L (100/mm³) en ausencia de agentes provocadores.
10. Trastorno inmunitario	Anticuerpo anti DNA frente al DNA nativo con títulos anormales o <ol style="list-style-type: none"> Anti-Dm: presencia de anticuerpo frente al antígeno nuclear Sm, p Hallazgo positivo de anticuerpos antifosfolípido, basado en : 1) nivel sérico anormal de anticuerpos IgG o IgM anticardiolipina, 2) análisis positivo para el anticuagulante lúpico, usando una prueba normalizada, o 3) prueba serológica positiva falsa par la sífilis con positividad conocida durante al menos seis meses y confirmada con una prueba negativa de inmovilización de <i>Treponema</i> o un análisis de absorción de fluorescencia para <i>Treponema</i>.
11. Anticuerpo antinuclear	Título anormal de anticuerpo por inmunofluorescencia o nálisis equivalente en cualquier momento y en ausencia de medicamentos con asociación conocida al síndrome de lupus inducido por fármacos.

*** La clasificación propuesta se basa en 11 criterios. Para identificar a los pacientes en los estudios clínicos, se dice que la persona padece un lupus eritematoso sistémico cuando cumple 4 o más de los 11 criterios, sucesivas o simultáneamente, durante un intervalo de observación dado.**

Fuente: Tan EM y cols.: The revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus Arthritis Rheum. 40:1725, 1997.

El LES no presenta un solo patrón clínico característico. Los síntomas constitucionales son fiebre, pérdida de peso, malestar general y letargia. Es posible que estén afectados todos los aparatos y sistemas (31).

a. Diagnóstico inmunitario:

Proteínas y Complemento: La mayoría de los pacientes con LES (80 por ciento) presenta globulinas alfa₂ y gamma aumentadas. En ocasiones, hay hipoalbuminemia. El complemento sérico con frecuencia está disminuido en presencia de la enfermedad activa, debido al aumento de su utilización por complejos inmunitarios y a la disminución de la síntesis hepática de los componentes del complemento. Varios componentes individuales del complemento incluso C₃ y C₄, así como su actividad hemolítica total, están disminuidos durante la enfermedad activa. El suero de sujetos con LES activo, a veces contiene crioglobulina circulante que consiste en agregados IgM/IgG y complemento (31, 32).

Para hacer el diagnóstico del LES los autoanticuerpos se pueden determinar utilizando: Fenómeno de células de LE (células que poseen los núcleos lesionados y estos reaccionan con los ANA, pierden su patrón cromático y se hacen homogéneos), anticuerpos antinucleares (ANAs), anticuerpos antiDNA y complejos inmunitarios, anticuerpos antieritrocito, anticoagulantes circulantes, antifosfolipídicos y anticuerpos antiplaquetarios, prueba serológica falsa positiva para sífilis, factores reumatoides, anticuerpos anticitoplasmáticos (9, 31, 34).

b. Tratamiento:

Es difícil valorar la eficacia de los fármacos utilizados en la terapéutica de LES, ya que existen remisiones espontáneas. Según la gravedad, quizás no se requiera tratamiento alguno, o bien éste deba ser mínimo (antiinflamatorios no esteroideos ó antipalúdicos) o intensivo (corticosteroides, citotóxicos) (31).

Cuando la artritis es el síntoma predominante y no están afectados otros aparatos o sistemas de manera significativa, la aspirina a grandes dosis u otro antiinflamatorio no esteroide de acción rápida puede ser suficiente para aliviar los síntomas. Los corticosteroides sistémicos en el LES grave pueden suprimir la actividad de la enfermedad y prolongar la vida (9, 31).

c. Pronóstico:

El LES puede tener un curso leve confinado a uno o pocos órganos o es posible que constituya una enfermedad mortal fulminante. Las complicaciones como la insuficiencia renal ó cuando el lupus afecta el sistema nervioso central eran las causas principales de muerte hasta que usaron de modo generalizado corticosteroides y citotóxicos. Desde entonces, las complicaciones terapéuticas, como arteriosclerosis, infección y cáncer, se han transformado en las causas principales de muerte. El índice de supervivencia a cinco años de pacientes con LES ha mejorado marcadamente ya que en la actualidad se aproxima de 80 a 90 por ciento (9, 31).

2. Artritis Reumatoide:

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria crónica, sistémica, que tiene sus manifestaciones más prominentes en las articulaciones diartrodiales. Se desarrolla una sinovitis persistente y progresiva en las articulaciones periféricas. Los factores genéticos y ambientales controlan la progresión, la extensión y el patrón de respuesta inflamatoria, y por lo tanto son responsables de las características clínicas heterogéneas (35-36).

Aunque sigue habiendo muchas dudas, actualmente se cree que la AR se desencadena cuando un huésped inmunogenéticamente susceptible se pone en contacto con un antígeno microbiano capaz de generar artritis. De ese modo comienza el proceso artrítico agudo, pero es la reacción autoinmunitaria continua (la activación de las células T colaboradoras CD4+ y la liberación local de citocinas y mediadores inflamatorios) la que, en último término, destruye la articulación (9).

La edad habitual de inicio de la AR es de 20 a 40 años. En la mayor parte de los casos la enfermedad se presenta con manifestaciones articulares. Sin embargo, algunos individuos desarrollan primero manifestaciones extraarticulares como fatiga, debilidad, pérdida de peso y anorexia (31).

Algunas de las manifestaciones articulares son: rigidez y dolor articular. Además de signos de inflamación articular (35-36).

a. Diagnóstico inmunitario:

El dato serológico más importante es el título aumentado de factor reumatoide, presente en más de 75 por ciento de los individuos. Los factores reumatoides son inmunoglobulinas con especificidad para el fragmento Fc de la IgG. En la artritis

reumatoide, la electroforesis de proteínas séricas puede mostrar incremento de alfa₂-globulina, hipergammaglobulinemia policlonal e hipoalbuminemia. Muchos pacientes evidencian la presencia de ANAs (31).

b. Tratamiento:

Dependiendo del grado de progresión que tenga la enfermedad el tratamiento puede ser fisioterapia, fármacos (antiinflamatorios no esteroides, antipalúdicos, tratamiento con sales de oro, penicilamina, sulfasalacina, corticosteroides, inmunosupresores, etc.) y si la enfermedad está muy avanzada lo mas recomendable es cirugía ortopédica (31).

c. Pronóstico:

Hay varias presentaciones clínicas de la artritis reumatoide. En general, puede presentarse remisión espontánea dentro de los dos años después del inicio de la enfermedad. Algunos sujetos tienen episodios cortos de artritis aguda con periodos más largos de actividad de bajo grado o remisión. Son escasos los individuos que presentan progreso sostenido de la enfermedad activa, lo que origina deformidad y muerte (31).

3. Síndrome de Sjögren:

El síndrome de Sjögren (SS) es un trastorno de las glándulas exocrinas mediado inmunológicamente. La presentación clínica más frecuente es la combinación de ojos secos (queratoconjuntivitis seca) y boca seca (xerostomía). Se divide en primario y secundario. El síndrome primario es un trastorno aislado, ya que solo presenta la sequedad que también puede involucrar órganos extraglandulares como piel, hígado, pulmón y sistema nervioso, y es también conocido como síndrome seco (36). El síndrome secundario afecta a pacientes con síntomas de sequedad en asociación a otras enfermedades autoinmunes, sobre todo AR, LES o esclerosis sistémica (9, 31, 35). El 90 por ciento de los individuos con este síndrome son de sexo femenino. Aunque la edad promedio de inicio es a los 50 años (31).

Los individuos con este síndrome tienen respuesta inmunitaria anormal a uno o más antígenos no identificados, quizás antígenos virales o autoantígenos alterados por virus. Esta respuesta anormal se caracteriza por exceso de actividad de células B y células plasmáticas, lo cual se manifiesta por hipergammaglobulinemia policlonal y producción de factores reumatoides, factores antinucleares, crioglobulinas y anticuerpos contra conducto salival (31).

Las características esenciales del SS incluyen infiltrados linfoides focales en las glándulas lagrimales y salivales (29).

a. Diagnóstico inmunitario:

En las anormalidades humorales se aprecia hipergammaglobulinemia en la mitad de los casos. Aunque en la electroforesis de proteínas séricas en general muestra hipergammaglobulinemia policlonal, algunos sujetos desarrollan paraproteinemia monoclonal IgM, generalmente del tipo kappa. El ANA en patrón homogéneo o moteado, se encuentra en 70 por ciento de los individuos (30). También se encuentran títulos altos de anticuerpos Anti Ssa (Ro) y/o anticuerpos Ssb (La), estos se utilizan como prueba confirmatoria.

Anormalidades celulares: El 30 por ciento de quienes presentan el síndrome tienen disminución de la respuesta de linfocitos a estimulación por mitógenos. Unos pocos también presentan disminución en el número de linfocitos T en sangre periférica (31).

b. Tratamiento:

Para el tratamiento del SS pueden haber medidas sintomáticas y medidas sistémicas. Los corticosteroides o inmunosupresores pueden ser útiles en la terapéutica de personas con enfermedad grave o que ponga en peligro la vida, como linfoma o infiltración linfocítica masiva de los órganos vitales (31).

c. Pronóstico:

En la gran mayoría de los sujetos, la linfoproliferación importante está confinada a tejido glandular salival, lacrimal y de otras mucosas, lo que ocasiona un curso crónico benigno de xerostomía y xeroftalmía. Pocas veces desarrollan infiltración o neoplasia linfoide importante extraglandular (31).

4. Esclerosis sistémica:

Es una enfermedad de etiología desconocida, que se caracteriza por un incremento anormal del depósito de colágena en la piel. El órgano afectado con mayor frecuencia es la piel, pero también es común la afectación del aparato gastrointestinal, riñones, corazón, músculos y pulmones. Las mujeres se afectan dos veces más frecuentemente que los varones (9, 31, 36).

En los últimos años se reconoció la diversidad clínica de la enfermedad, que se clasificó en dos grandes categorías: Esclerodermia difusa, con extensa afectación inicial de la piel y una rápida progresión, con afectación visceral precoz. Esclerodermia localizada, con una afectación cutánea relativamente limitada, a menudo presente sólo en los dedos de las manos, antebrazos y cara. La afectación visceral es más tardía y la evolución clínica es relativamente benigna (9).

La vasculopatía y fibrosis generalizada de pequeños vasos distingue a la esclerosis sistémica de otras enfermedades del tejido conjuntivo. Ambos procesos ocurren en la piel y órganos internos, causando síntomas y disfunción de órganos. La vasculopatía y fibrosis de la esclerosis sistémica se originan en un entorno de autoinmunidad (35-36).

a. Diagnóstico inmunitario:

La hipergammaglobulinemia es una anormalidad serológica frecuente en la esclerosis sistémica progresiva. La prueba del ANA muestra un patrón moteado o nucleolar en 70 por ciento de los casos (31).

b. Pronóstico:

Hay remisiones espontáneas, pero el curso habitual de la enfermedad es de progreso inevitable de afección dérmica a visceral. La afección de corazón, pulmones o riñones, se acompaña con un gran índice de mortalidad. La neumonía por aspiración que resulta de la disfunción esofágica, es una complicación de la enfermedad avanzada (31).

Aunque el pronóstico para cualquier sujeto determinado es variable en extremo, el índice general de supervivencia a cinco años para esclerosis sistémica progresiva es cerca de 40 por ciento (31).

C. Diagnóstico de Anticuerpo Anticardiolipina

De los anticuerpos antifosfolipídicos, el anticuerpo anticardiolipina es el que con más frecuencia se mide a pesar de que se sabe que pacientes con enfermedades infecciosas u otros desordenes autoinmunes muestran algunos anticuerpos con actividad distinta de anticardiolipina (37-38)

Estos anticuerpos están asociados con tromboembolia recurrente arterial, *livedo reticularis*, pérdida fetal recurrente, trombocitopenia, anemia hemolítica autoinmunes, enfermedad neurológica y otras. Estos síntomas están presentes frecuentemente en casos de LES y muchas otras condiciones tanto de naturaleza autoinmune o no, a los que se les clasifica incluso como enfermos con síndrome de anticuerpo antifosfolípido o anticardiolipina (1, 7-9).

Estudios muestran que más del 50 por ciento de pacientes con lupus tienen uno o más clases de anticuerpos anticardiolipina, la presencia de estos anticuerpos sirven como marcador del riesgo de sufrir eventos tromboembólicos, ya sea con compromiso venoso (cava inferior, renal, retina, suprahepática) o arterial (coronaria, cerebral, digital) (4, 39-40).

Los pacientes de LES que presentan estos anticuerpos son 4 veces más susceptibles de sufrir estos eventos que aquellos que no los poseen (4).

Es probable que algunas de estas asociaciones como cefaleas y fenómenos tromboembólicos, tengan nexos patogénicos comunes como agregación plaquetaria, daño endotelial o hipercoagulabilidad que explicarían su vinculación con los anticuerpos anticardiolipina (4).

Los anticuerpos anticardiolipina son una combinación de IgG, IgM, e IgA. La IgG es la clase que más prevalece y la que tiene mas correlación clínica (4, 39-40)

La cuantificación de estas es de vital importancia y la curva de calibración se lleva a cabo mediante el uso de estándares de calibración internacional. Los resultados se expresan en unidades de anticuerpo antifosfolípido (GPL para IgG, MPL para IgM) y también IgA (4).

Los pacientes que tienen altos niveles de estos anticuerpos son propensos a desarrollar los síntomas clínicos. Los pacientes que presentan anticuerpos anticardiolipina IgM e IgA generalmente presentan IgG, sin embargo, es poco común ver trombosis o pérdidas fetales con un isotipo IgM solo (4). La detección de las tres es aconsejable.

Se debe determinar anticuerpo anticardiolipina (IgG e IgM) y Anticoagulante Lúpico simultáneamente.

Los pacientes con SAF pueden tener anticuerpos que reaccionen con otros fosfolípidos cuya medición tiene ciertos beneficios clínicos, de allí la determinación de anticuerpos antifosfolípido (ac antifosfatidilserina, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol) (4).

Se determina un paciente con síndrome antifosfolípido usando:

- i. Pruebas de anticuerpo antifosfolípido con título medio o alto mayor de 20 unidades (porque el HIV y la sífilis dan valores bajos).
- ii. Anticuerpos anticardilipinas positivos.
- iii. Sintomatología clínica (4).

El diagnóstico del SAF se puede realizar si el paciente tiene bien documentado el cuadro clínico típico con una prueba positiva de anticoagulante lúpico y/o anticardiolipina IgG positiva por encima de 40 unidades de Ig G de fosfolípido (GPL) (2).

QUANTA –Lite ACA es un ensayo basado en la técnica ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para la detección semi cuantitativa de anticuerpos anticardiolipina, *in vitro*. QUANTA-Lite posee microplacas para la detección de anticuerpos anticardiolipina IgM e IgG. La determinación se realiza de forma parecida en ambos procedimientos. La especificidad relativa que presenta el QUANTA-Lite IgM III es del 97.8 por ciento mientras que del QUANTA-Lite Ig G III es de 98.7 por ciento. Con respecto a la sensibilidad relativa la del QUANTA-Lite IgM III es del 94.0 por ciento mientras que del QUANTA-Lite Ig G III es de 96.6 por ciento. La eficiencia relativa del QUANTA-Lite IgM III es del 93.5 por ciento y la del QUANTA-Lite Ig G III es de 97.3 (39-40).

D. Diagnóstico de Anticoagulante Lúpico (AL)

La prueba de tamizaje para la determinación de AL se basa en la determinación del tiempo parcial de tromboplastina activada (TTPa), el cual se encuentra prolongado cuando el paciente posee AL circulante.

Ante el hallazgo de un TTPa alterado, deben realizarse estudios mezclados para confirmar la presencia del AL y con esto descartar déficit de factores de coagulación. Entre dichos ensayos están el tiempo de protrombina (TP), tiempo de veneno de víbora de Russel diluido (TVVRs), la cual es utilizada como confirmatorio más que como un método de tamizaje (4-10).

En el año 2005-2006, en Guatemala, se realizaron dos estudios para determinar la presencia de AL en dos poblaciones diferentes: uno se basó en un grupo de mujeres embarazadas, sanas, sin historia de aborto y el otro en pacientes con enfermedades cardíacas e hipertensión en la Liga del corazón, en ambos no se encontró presencia de AL (41, 42).

IV. JUSTIFICACIÓN

En 1983 se realizaron los primeros estudios sobre el SAF y las características clínicas que éste presentaba, para esa época dicho síndrome se clasificó como primario o secundario, dependiendo de si el SAF se presentase solo o asociado al LES. El SAF al igual que algunas enfermedades reumáticas se asocian a autoanticuerpos que presentes en la enfermedad reumática, pueden desencadenar la presencia de los AAF. El SAF es una entidad conocida entre los reumatólogos, obstetras y hematólogos pero aún sigue siendo un serio problema clínico por la multiplicidad de sistemas que compromete, prácticamente involucra la generalidad de las disciplinas médicas y cubre todas las esquinas de la Medicina. Cobra vigencia por la variedad de manifestaciones clínicas que produce, tales como trombosis arteriales o venosas, pérdidas fetales recurrentes, trombocitopenia moderada, severa, etc. Desde su descripción se han realizado estudios para saber más acerca de esta entidad y el avance en la inmunología ha permitido conocer mejor su fisiopatología lo cual ha derivado en mejores opciones terapéuticas.

Se debe cuantificar el porcentaje de positividad de los ACAs en pacientes con antecedentes de LES y enfermedades asociadas para obtener información de valor clínico y de ser necesario, establecer de rutina la medición de ACA. Con ésto adquirir valores de la población guatemalteca que padece LES y enfermedades asociadas con respecto a los anticuerpos anticardiolipina; así como establecer las características clínicas que presentan las personas que presentan títulos elevados del ACAs.

V. OBJETIVOS

A. Objetivo General:

Conocer la prevalencia de anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM en pacientes con padecimiento de Lupus Eritematoso Sistémico y enfermedades relacionadas.

B. Objetivos Específicos:

1. Cuantificar anticuerpos anticardiolipina y establecer, si fuese necesario la determinación de rutina de ACA en pacientes con enfermedades reumáticas que asisten tanto a consulta externa del área de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios como pacientes internados en dicho centro asistencial.
2. Identificar las principales características clínicas relacionadas a la existencia de pruebas para ACA positivas.
3. Informar a los médicos tratantes de los pacientes de los resultados obtenidos de la determinación de AAC para iniciar el tratamiento si lo considerasen necesario.

VI. HIPÓTESIS

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

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Pacientes que asistieron a la consulta externa del área de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios.

B. Muestra

Ciento ochenta y nueve (189) pacientes que asistieron a la consulta externa del área de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios.

C. Recursos:

1. Recursos Humanos

- a. Tesista: Br. Gabriela Anaité Raxcacó Rodas
- b. Asesores: Licda. Margarita Paz de Ramírez
Lic. Herbert Arévalo
Dr. Jaime Cáceres

3. Recursos Institucionales

- a. Área de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios.
- b. Laboratorio del Hospital General San Juan de Dios.

4. Recursos Materiales

- a. Reactivos para determinar AAC IgG e IgM marca QUANTA –Lite™
 - Microplaca ELISA de poliestireno con pocillos recubiertos con antígeno cardiolipina purificado.
 - Control negativo ACA, solución con preservante y suero humano sin ACA.
 - Control ACA IgG ELISA, solución con preservante y suero humano con ACA.
 - Calibradores ACA IgG ELISA, solución con preservante y suero humano con ACA.

- Control ACA IgM ELISA, solución con preservante y suero humano con ACA.
- Calibradores ACA IgM ELISA, solución con preservante y suero humano con ACA.
- Diluyente de muestra ACA.
- Conjugado HRP IgG, con anti-IgG de cabra.
- Conjugado HRP IgM, con anti-IgM de cabra.
- Cromógeno TMB.
- Solución de parada HRP, ácido sulfúrico 0.344 M.

b. Equipo

- Tubos de extracción al vacío sin anticoagulante
- Aguja para tubo de extracción al vacío (21 x 1½).
- Ligadura
- Alcohol al 70 por ciento
- Algodón
- Enfriador a 4°C.
- Centrífuga.
- Pizeta.
- Puntas amarillas descartables.
- Puntas azules descartables.
- Curitas redondas
- Pipetas automáticas para aspirar volúmenes de 10-100 y de 100-1000 µL.
- Microtubos con tapón hermético (Eppendorf).
- Material de oficina (hojas, lapiceros, marcadores, etc).
- Encuesta epidemiológica.
- Computadora, impresora, disquetes, etc.
- Material de bioseguridad (bata, mascarilla, guantes, etc.)

D. Metodología:

1. Consentimiento:

Se solicitó el consentimiento de los pacientes por medio de su firma en el consentimiento informado del estudio y se le pidió que resolvieran algunos cuestionamientos relacionados con el estudio (ficha epidemiológica) (Anexo 4-5).

La obtención de consentimiento informado del estudio permitió el acceso a la historia clínica del paciente. La ficha epidemiológica constó de un número definido de cuestionamientos que llevaron a establecer relación entre los signos y síntomas, historia clínica y la positividad de pruebas para ACA.

2. Toma de muestra

b. Procedimiento

- i. La muestra se obtuvo por venopunción utilizando un tubo sin anticoagulante.
- ii. Se eligió la vena de la cual se extrajo la muestra.
- iii. Se limpió el sitio de la punción con etanol como antiséptico.
- iv. Se colocó el torniquete o ligadura alrededor del antebrazo para aplicar presión y limitar el flujo sanguíneo a través de la vena permitiendo así que las venas debajo del torniquete se dilataran.
- v. Se introdujo la aguja en la vena y se colectó la sangre en el tubo antes mencionado (5mL).
- vi. Próximo a finalizar el procedimiento, se retiró el torniquete para restablecer la circulación.
- vii. Una vez recolectada la sangre, se retiró la aguja y se cubrió el punto de punción para detener cualquier sangrado (44-45).

3. Procedimiento

a. Título de AAC por técnica de ELISA QUANTA Lite™ ACA IgG III

Los pocillos de la microplaca contenían antígeno cardiolipina altamente purificado que se ha unido en condiciones que mantienen su estado nativo. Se añadieron los controles y muestras diluidas en pocillos separados, estos se unieron durante la incubación a los anticuerpos anti cardiolipina de tipo IgG

al antígeno que los recubre. Se eliminó el resto de componentes no unidos mediante lavado y se añadió conjugado anti IgG humana a cada pocillo. Segundo paso: Se incubó, el conjugado se unió a los anticuerpos presentes. Se lavó para eliminar el conjugado sobrante, se añadió un sustrato cromogénico y se incubó. La actividad enzimática presente en el pocillo fue proporcional a la intensidad de color desarrollado. Se detuvo la producción enzimática de producto coloreado y se determinó la presencia o ausencia de anticuerpos contra la cardiolipina por medio de la comparación de la densidad óptica de la muestra con la de una curva de calibración de cinco puntos. Los resultados se reportaron de forma semicuantitativa en unidades estándar de anticardiolipina IgG (GPL) (39).

b. Curva de Calibración:

Para los puntos de A a E de la curva estándar de cinco puntos, se usaron los calibradores de QUANTA-Lite IgM e IgG de A a E, se realizó el ensayo y se calcularon las unidades de fosfolípidos. Se plotearon en un plano cartesiano los puntos en Unidades de fosfolípidos.

c. Cálculo de Resultados:

- i. Se determinaron los valores medios de todas las lecturas duplicadas
- ii. Se graficó la absorbancia media de la curva del calibrador en el ensayo de ACA en función del log (registro de rendimiento) de concentraciones. Se utilizó un gráfico de curva de línea de mejor ajuste o bien un gráfico log-log. Las unidades de fosfolípidos asignadas a los calibradores se encontraron en los viales de los respectivos calibradores (anexo 6-7).
- iii. Se determinó la concentración en unidades de fosfolípidos de anticuerpos anticardiolipina desconocida en el eje “X” a partir de la absorbancia correspondientes en el eje “Y”

d. Interpretación de Resultados:

- i. Un resultado positivo indicó la presencia de anticuerpos anticardiolipina y se puede usar junto con otras pruebas serológicas y hallazgos clínicos para ayudar en la evaluación del riesgo de trombosis en individuos con LES o trastornos de tipo Lúpico.

- ii. Los resultados se expresaron en unidades de IgG (GPL) o IgM (MPL). Se sugiere que cada laboratorio establezca su propio rango normal. En función de estudios anteriores se realizó un punto de corte indicado de 15 GPL. Aún cuando se utilice una curva de calibración, existe variación en los resultados con niveles bajos y es frecuente obtener falsos positivos (44). Por tal razón en el presente estudio se consideraron positivos los resultados superiores de 20 GPL.
 - iii. Un resultado negativo indica la ausencia de AAC o niveles inferiores al punto de corte del ensayo.
- e. Control de Calidad:
- i. Se incluyeron los controles Control ACA IgG ELISA, Calibrador A ACA IgG ELISA y Control Negativo ACA en cada una de las corridas realizadas para asegurar que todos reactivos y procedimientos funcionan correctamente.
 - ii. Para considerar válidos los resultados se consideraron los siguientes criterios:
 1. La absorbancia del control Calibrador A ACA IgG ELISA debía ser superior a la del Control ACA IgG ELISA y la de este debe ser superior a la del control negativo.
 2. El control Calibrador A ACA IgG ELISA debía tener una absorbancia mayor que 1.0 mientras que la del control negativo no debía exceder de 0.2.
 3. La absorbancia del Control ACA IgG ELISA debió de ser superior al doble del control negativo, u oscilar entre 0.25.

E. Diseño de la Investigación:

- a. Variables:
 - i. Variable Independiente
 - Anticuerpo anticardiolipina

ii. Variable Dependiente

- Lupus Eritematoso Sistémico y enfermedades asociadas.
-

- b. Muestra y diseño de muestreo: Se recolectaron un total de 189 pacientes por conveniencia de febrero a abril del 2006. El cálculo de la muestra se realizó de utilizando la formula siguiente:

$$n = \frac{K^2 * p * q * N}{(e^2(N-1) + K^2 * p * q)}$$

Donde:

N: Número total de posibles muestreados.

K: Constante dependiente del nivel de confianza (95% IC 1.96)

e: Error muéstrela.

p: Individuos que poseen la característica

q: Individuos que no poseen la característica

n: Tamaño de muestra.

- c. Análisis de resultados: Estimación de la prevalencia con un IC del 95 por ciento usando la aproximación a la distribución normal de la distribución binomial (Z).

VIII. RESULTADOS

Se recolectaron muestras de pacientes que asistieron a la consulta externa de la clínica de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios, del 15 de febrero al 15 de abril del 2006, obteniéndose un total de 189 muestras. La distribución de género y enfermedad que poseían los pacientes se observa en la tabla No. 6:

Tabla No. 6 Clasificación de pacientes que ingresaron al estudio por género y enfermedad Reumatológica

Género	Enfermedad					TOTAL
	LES n (por ciento)	AR n (%)	SS n (%)	ES n (%)	Otros n (%)	
Femenino	68 (36.0)	67 (35.4)	4 (2.1)	3 (1.6)	31 (16.4)	173 (91.5)
Masculino	5 (2.7)	7 (3.7)	0 (0)	0 (0)	4 (2.1)	16 (8.5)
TOTAL	73 (38.7)	74 (39.1)	4 (2.1)	3 (1.6)	35 (18.5)	189 (100)

Fuente: Datos Experimentales.

LES: Lupus Eritematoso sistémico.

SS: Síndrome de Sjögren

AR: Artritis Reumatoidea.

ES: Esclerosis Sistémica.

Los pacientes que ingresaron al estudio padecían enfermedades reumáticas. La columna de otros incluye otras enfermedades tales como la Osteomielitis, Osteoartritis, Polimiositis y Espondilitis.

Se realizó la cuantificación de anticuerpos anticardiolipina IgG (ACA IgG) como IgM (ACA IgM). Se procesaron 189 muestras para ACA IgM y 164 para ACA IgG. Como se puede observar en las tablas 7 y 8, la prevalencia de ACA IgG como IgM fue de 32.3 por ciento y 24.9 por ciento respectivamente, con un IC 95% los intervalos de confianza son para ACA IgG de 24.6 y 38.9, mientras que los de IgM son de 18.8 y 31.1. Sin embargo, el 12.7 por ciento de pacientes poseían una concentración mayor de 20 unidades de fosfolípidos para ambos ACA con un IC del 95%, los intervalos son de 10.3 a 15.1 (tabla 9). Se observó una prevalencia de ambas ACA positivas, IgG e IgM, de 7.4 por ciento en pacientes con LES. Para la AR un 3.7 por ciento, los pacientes que presentaban otras enfermedades presentaron un 1.1 por ciento y el SS un 0.5 por ciento, con un IC 95%.

Tabla No. 7 Concentración de Anticuerpo anti-cardiolipina IgG en pacientes con enfermedades reumáticas.

ACA IgG	Enfermedad					
	LES	AR	SS	ES	Otros	TOTAL
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Mayor de 20 GPL	26 (13.8)	20 (10.6)	3 (1.6)	1 (0.5)	11 (5.8)	61 (32.3)
Menor de 20 GPL	36 (19.1)	40 (21.1)	1 (0.5)	2 (1.1)	24 (12.7)	103 (54.5)
Sin resultado	11 (5.8)	14 (7.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	25 (13.2)
TOTAL	73 (38.7)	74 (39.1)	4 (2.1)	3 (1.6)	35 (18.5)	189 (100)

Fuente: Datos Experimentales

LES: Lupus Eritematoso sistémico.

SS: Síndrome de Sjögren

AR: Artritis Reumatoidea.

ES: Esclerosis Sistémica.

Tabla No. 8 Concentración de Anticuerpo anti-cardiolipina IgM en pacientes con enfermedades reumáticas.

ACA IgM	Enfermedad					
	LES	AR	SS	ES	Otros	TOTAL
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Mayor de 20 MPL	21 (11.2)	18 (9.5)	3 (1.6)	0 (0)	5 (2.6)	47 (24.9)
Menor de 20 MPL	52 (27.5)	56 (29.6)	1 (0.5)	3 (1.6)	30 (15.9)	142 (75.1)
TOTAL	73 (38.7)	74 (39.1)	4 (2.1)	3 (1.6)	35 (18.5)	189 (100)

Fuente: Datos Experimentales

LES: Lupus Eritematoso sistémico.

SS: Síndrome de Sjögren

AR: Artritis Reumatoidea.

ES: Esclerosis Sistémica.

De las pacientes que participaron en el estudio, 51 expresaron haber perdido por lo menos un hijo por aborto espontáneo. En estas pacientes los resultados de ACA se pueden observar en la tabla No. 10.

Tabla No. 9 Resultados de Anticuerpos anti-cardiolipina en los pacientes incluidos en el estudio, dependiendo de la enfermedad reumatológica que padecen.

	Enfermedad															TOTAL n (%)
	LES			AR			SS			ES			OTROS			
	IgG		SR	IgG		SR	IgG		SR	IgG		SR	IgG		SR	
	Negativo n (%)	IgG Positivo n (%)		Negativo n (%)	IgG Positivo n (%)		Negativo n (%)	IgG Positivo n (%)		Negativo n (%)	IgG Positivo n (%)		Negativo n (%)	IgG Positivo n (%)		
IgM	30	12	10	35	13	8	1	2	0	2	1	0	21	9	0	144
Negativo	(15.9)	(6.4)	(5.3)	(18.5)	(6.9)	(4.2)	(0.5)	(1.1)	(0)	(1.1)	(0.5)	(0)	(11.1)	(4.7)	(0)	(76.2)
IgM Positivo	6	14	1	5	7	6	0	1	0	0	0	0	3	2	0	45
	(3.3)	(7.4)	(0.5)	(2.6)	(3.7)	(3.2)	(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1.6)	(1.1)	(0)	(23.8)
TOTAL	36	26	11	40	20	14	1	3	0	2	1	0	24	11	0	189
	(19.1)	(13.8)	(5.8)	(21.1)	(10.6)	(7.4)	(0.5)	(1.6)	(0)	(1.1)	(0.5)	(0)	(12.7)	(5.8)	(0)	

LES: Lupus Eritematoso sistémico.**ES:** Esclerosis Sistémica

Fuente: Datos Experimentales

AR: Artritis Reumatóidea.

. SR: Sin Resultado

IgG Positivo: Mayor de 20GPL

IgM Positivo: Mayor de 20 MPL

SS: Síndrome de Sjögren

IgG Negativo: Menor de 20 GPL

IgG Positivo: Menor de 20 MPL

Tabla No. 10 Resultados de ACA de mujeres que participaron en el estudio y que perdieron por lo menos un hijo por aborto espontáneo.

		ACA IgG			
	ACA Ig M	IgG Negativo n (%)	IgG Positivo n (%)	SR n (%)	TOTAL
1-2 abortos	IgM Negativo	21 (41.1)	6 (11.8)	3 (5.9)	30 (58.8)
	IgM Positivo	4 (7.9)	8 (15.7)	2 (3.9)	14 (27.5)
3 o más	IgM Negativo	3 (5.9)	3 (5.9)	0 (0)	6 (11.8)
	IgM Positivo	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	1 (1.9)
Total		28 (54.9)	18 (35.3)	5 (9.8)	51 (100)

Fuente: Datos Experimentales

IgG Positivo: Mayor de 20GPL

IgM Positivo: Mayor de 20 MPL

SR: Sin Resultado

IgG Negativo: Menor de 20 GPL

IgG Positivo: Menor de 20 MPL

El 17.5 por ciento de las pacientes que habían perdido por lo menos un hijo por aborto espontáneo estaban positivas para ambos ACA. Además se obtuvo una prevalencia de 35.3 por ciento para ACA IgG y un 29.4 por ciento para ACA IgM, con un IC 95% (31.8, 38.8 para IgG y 26.1, 32.7 para IgM).

Las pacientes que padecen LES presentaban un 5.9 por ciento de positividad para ambas ACA. Seguido de la AR y OTROS con un 3.9 por ciento, el SS tuvo un porcentaje de 1.9 por ciento y la enfermedad que no tuvo ninguna paciente positivo fue la ES. (Tabla 11).

Algunos de los pacientes indicaron tener alguna enfermedad cardíaca, entre las cuales mencionaron enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), soplo cardíaco o haber padecido infarto. Las concentraciones de ACA que se obtuvo de estos pacientes se pueden observar en la tabla No. 12.

Tabla No. 11 Resultados de Ac. Anti-cardiolipina en mujeres que perdieron por lo menos un hijo por aborto espontáneo.

		Enfermedad														TOTAL	
		LES			AR			SS			ES			OTROS			
		IgG Negativo	IgG Positivo	SR	IgG Negativo	IgG Positivo	SR	IgG Negativo	IgG Positivo	SR	IgG Negativo	IgG Positivo	SR	IgG Negativo	IgG Positivo		SR
Anticuerpos anti- cardiolipina		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
1-2 abortos	IgM Negativo	7 (13.8)	1 (1.9)	2 (3.9)	6 (11.8)	2 (3.8)	1 (1.9)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (15.9)	2 (3.9)	0 (0)	30 (58.7)
	IgM Positivo	1 (1.9)	3 (5.9)	0 (0)	2 (3.9)	2 (3.9)	2 (3.9)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	2 (3.9)	0 (0)	14 (27.2)
3 o más abortos	IgM Negativo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (3.9)	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	2 (3.9)	0 (0)	6 (11.8)
	IgM Positivo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1.9)
Total		8 (15.6)	4 (7.8)	2 (3.9)	10 (19.7)	6 (11.8)	3 (5.9)	0 (0)	2 (3.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (19.7)	6 (11.8)	0 (0)	51

LES: Lupus Eritematoso sistémico.**ES:** Esclerosis Sistémica.

Fuente: Datos Experimentales

AR: Artritis Reumatóidea.**SS:** Síndrome de Sjögren

IgG Positivo: Mayor de 20GPL

IgM Positivo: Mayor de 20 MPL

SS: Síndrome de Sjögren

SR: Sin resultado

IgG Negativo: Menor de 20 GPL

IgG Positivo: Menor de 20 MPL

De estos pacientes 13.1 por ciento poseían concentraciones mayores de 20 unidades en ambas ACA, y 8.7 por ciento de estos padecían LES. El porcentaje restante padecían de otras enfermedades (Tabla No. 13)

Tabla No. 12 Resultados de ACA en pacientes que participaron en el estudio y que tenían diagnosticado algún padecimiento cardíaco.

ACA IgG				
ACA Ig M	IgG Negativo	IgG Positivo	SR	TOTAL
	n (%)	n (%)	n (%)	
IgM Negativo	10 (43.5)	8 (34.8)	1 (4.3)	19 (82.6)
IgM Positivo	1 (4.3)	3 (13.0)	0 (0)	4 (17.3)
Total	11 (47.8)	11 (47.8)	1 (4.3)	23 (100)

Fuente: Datos Experimentales

IgG Positivo: Mayor de 20GPL

IgM Positivo: Mayor de 20 MPL

SR: Sin Resultado

IgG Negativo: Menor de 20 GPL

IgG Positivo: Menor de 20 MPL

El 39.2 por ciento de los pacientes padecían de hipertensión y las concentraciones de ACA se pueden observar en la Tabla No. 14.

Tabla No. 14 Resultados de ACA en pacientes con presión arterial alta

ACA IgG				
ACA Ig M	IgG Negativo	IgG Positivo	SR	TOTAL
	n (%)	n (%)	n (%)	
IgM Negativo	34 (45.9)	16 (21.6)	10 (13.5)	60 (81.0)
IgM Positivo	7 (9.5)	6 (8.1)	1 (1.4)	14 (19.0)
Total	41 (55.4)	22 (29.7)	11 (14.9)	74

Fuente: Datos Experimentales

IgG Positivo: Mayor de 20GPL

IgM Positivo: Mayor de 20 MPL

SR: Sin Resultado

IgG Negativo: Menor de 20 GPL

IgG Positivo: Menor de 20 MPL

Tabla No. 13 Resultados de Ac. Anti-cardiolipina dependiendo de la fecha del diagnóstico de la enfermedad reumática que padecen los pacientes que ingresaron al estudio

		Enfermedad															TOTAL
		LES			AR			SS			ES			OTROS			
		IgG	IgG	SR	IgG	IgG	SR	IgG	IgG	SR	IgG	IgG	SR	IgG	IgG	SR	
		Negativo	Positivo		Negativo	Positivo		Negativo	Positivo		Negativo	Positivo		Negativo	Positivo		
		n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	
Anticuerpos anti-cardiolipina		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Menos de 1 año	IgM Negativo	5	1	2	5	1	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	18
		(2.6)	(0.5)	(1.1)	(2.6)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1.1)	(1.1)	(0)
	IgM Positivo	0	4	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
		(0)	(2.1)	(0)	(0.5)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
1-5 años	IgM Negativo	11	5	2	14	3	4	1	0	0	0	0	0	9	6	0	55
		(5.8)	(2.6)	(1.1)	(7.4)	(1.6)	(2.1)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(4.8)	(3.2)	(0)	(29.1)
	IgM Positivo	2	2	0	0	2	3	0	1	0	0	0	0	1	0	0	11
		(1.1)	(1.1)	(0)	(0)	(1.1)	(1.6)	(0)	(0.5)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0.5)	(0)	(0)	(5.8)
Más de 5 años	IgM Negativo	14	6	6	16	9	4	0	2	0	2	1	0	10	1	0	71
		(7.4)	(3.2)	(3.2)	(8.5)	(4.8)	(2.1)	(0)	(1.1)	(0)	(1.1)	(0.5)	(0)	(5.3)	(0.5)	(0)	(37.5)
	IgM Positivo	4	8	1	4	4	3	0	0	0	0	0	0	2	2	0	28
		(2.1)	(4.2)	(0.5)	(2.1)	(2.1)	(1.6)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1.1)	(1.1)	(0)	(14.8)
Total		36	26	11	40	20	14	1	3	0	2	1	0	24	11	0	189
		(19.0)	(13.7)	(5.8)	(21.1)	(10.6)	(7.4)	(0.5)	(1.6)	(0)	(1.1)	(0.5)	(0)	(12.8)	(5.8)	(0)	

LES: Lupus Eritematoso sistémico.**ES:** Esclerosis Sistémica.

Fuente: Datos Experimentales

AR: Artritis Reumatóidea.

SR: Sin Resultado

IgG Positivo: Mayor de 20GPL

IgM Positivo: Mayor de 20 MPL

SS: Síndrome de Sjögren

IgG Negativo: Menor de 20 GPL

IgG Positivo: Menor de 20 MPL

De los pacientes que poseen presión alta, el 8.1 por ciento tenía concentraciones de ambos anticuerpos mayor a 20 unidades de fosfolípidos. El LES presenta un 4.0 por ciento de positividad para ambas ACA y las otras enfermedades poseen menor porcentaje tabla No. 15.

La prevalencia de ACA en los pacientes participantes en este estudio con respecto al tiempo del diagnóstico de la enfermedad reumática, se puede observar en la tabla No. 16.

Tabla No. 16 Resultados de ACA en los pacientes que participaron en el estudio dependiendo del tiempo de diagnóstico de la enfermedad reumática.

		ACA IgG			
	ACA Ig M	IgG Negativo	IgG Positivo	SR	TOTAL
		n (%)	n (%)	n (%)	
Menos de 1 año	IgM Negativo	12 (6.3)	4 (2.1)	2 (1.1)	18 (9.5)
	IgM Positivo	1 (0.5)	5 (2.6)	0 (0)	6 (3.1)
1-5 años	IgM Negativo	35 (18.5)	14 (7.4)	6 (3.2)	55 (29.1)
	IgM Positivo	3 (1.6)	5 (2.6)	3 (1.6)	11 (5.8)
Más de 5 años	IgM Negativo	42 (22.2)	19 (10.0)	10 (5.3)	71 (37.5)
	IgM Positivo	10 (5.3)	14 (7.4)	4 (2.1)	28 (14.8)
Total		103 (54.4)	61 (32.2)	25 (13.3)	189

Fuente: Datos Experimentales

IgG Positivo: Mayor de 20GPL

IgM Positivo: Mayor de 20 MPL

SR: Sin Resultado

IgG Negativo: Menor de 20 GPL

IgG Positivo: Menor de 20 MPL

En los pacientes diagnosticados hace menos de un año se observó una prevalencia de 5 por ciento para ambas cardiolipinas, mientras que los pacientes que tienen entre 1-5 años de ser tratados la prevalencia es de 2.6 por ciento. Y los que tienen más de 5 años de saber que padecen la enfermedad reumática la prevalencia de ambas cardiolipinas positivas es de 7.4 por ciento.

Tabla No. 15 Resultado de Ac. Anti-cardiolipina en pacientes que admitieron tener alguna afección cardiaca.

	Enfermedad															TOTAL
	LES			AR			SS			ES			OTROS			
	IgG	IgG	SR	IgG	IgG	SR	IgG	IgG	SR	IgG	IgG	SR	IgG	IgG	SR	
	Negativo	Positivo		Negativo	Positivo		Negativo	Positivo		Negativo	Positivo		Negativo	Positivo		
n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	n	
(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Anticuerpos anti-cardiolipina	4	3	0	3	2	1	0	0	0	1	1	0	2	2	0	19
IgM Negativo	(17.4)	(13.0)	(0)	(13.0)	(8.7)	(4.4)	(0)	(0)	(0)	(4.4)	(4.4)	(0)	(8.7)	(8.7)	(0)	(82.6)
IgM Positivo	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	4
	(0)	(8.7)	(0)	(4.4)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(4.4)	(0)	(17.4)
TOTAL	4	5	0	4	2	1	0	0	0	1	1	0	2	3	0	23
	(17.4)	(21.7)	(0)	(17.4)	(8.7)	(4.4)	(0)	(0)	(0)	(4.4)	(4.4)	(0)	(8.7)	(13.0)	(0)	

LES: Lupus Eritematoso sistémico.**ES:** Esclerosis Sistémica.

Fuente: Datos experimentales

AR: Artritis Reumatóidea.**SR:** Sin Resultado

IgG Positivo: Mayor de 20GPL

IgM Positivo: Mayor de 20 MPL

SS: Síndrome de Sjögren

IgG Negativo: Menor de 20 GPL

IgG Positivo: Menor de 20 MPL

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La primera enfermedad con la que se relacionó el SAF fue el lupus eritematoso sistémico (LES) (2, 5, 6). Debido a ello en el presente estudio se trabajó con pacientes diagnosticados con LES y con otras enfermedades reumáticas como lo son la artritis reumatoidea (AR), esclerosis sistémica (ES), síndrome de Sjögren (SS) y otras entre las que podemos mencionar osteomielitis, osteoartritis, polimiositis y espondilitis. Para facilidad el análisis se agruparon estas últimas cuatro enfermedades, en un grupo denominado “OTROS”. De las 189 personas que participaron en la investigación 173 (91.5 por ciento) fueron mujeres y sólo 16 (8.5 por ciento) eran hombres, obteniendo en este estudio una relación 11:1 (m:h). Las enfermedades que más prevalecieron fue el LES seguido de AR (tabla No. 1).

Las muestras se procesaron por grupos, aproximadamente de 15 pacientes en cada grupo, uno de los procedimientos para ACA IgG no cumplió con los criterios de validez para la corrida por lo cual dichos valores no se tomaron en cuenta. La prevalencia de ACA-IgG fue de 32.3 por ciento, coincidiendo con lo encontrado en la literatura, y 24.9 por ciento de positividad para ACA-IgM ambas prevalencias se realizaron con un IC 95%, los intervalos de confianza son para ACA IgG de 24.6, 38.9, mientras que los de IgM son de 18.8, 31.1. Sin embargo, los pacientes que tuvieron concentraciones de ambos anticuerpos mayores de 20 unidades fue un 12.7 por ciento, con un IC 95%, estos pacientes poseen un mayor riesgo de padecer del SAF, ya que la existencia de ambas ACA positivas es un criterio clínico de clasificación mayor del síndrome.

En los pacientes con LES la prevalencia fue de 13.8 por ciento en ACA-IgG y 11.1 por ciento ACA-IgM. Dichos pacientes obtuvieron la mayor prevalencia de ACA positivas, mientras que la misma disminuyó en la AR, 10.6 por ciento ACA-IgG y 9.6 por ciento en ACA-IgM. Debido al número de pacientes estudiados con otras enfermedades, no se puede comparar la prevalencia entre ellas, pero si es posible observar que en todas las patologías existía por lo menos un paciente positivo a uno de los dos ACA (tabla 9). Estos resultados demuestran una prevalencia mayor que la reportada para la población sana que es de un 2 por ciento. Según la literatura la AR puede dar falsos positivos para ACA por la naturaleza

de la enfermedad; sin embargo se observa una prevalencia que no sobrepasa a la del LES (37-38).

Una de las mayores complicaciones del SAF son los abortos recurrentes ya que este síndrome causa lesiones trombóticas en la placenta. De las pacientes estudiadas 51 habían tenido por lo menos una pérdida por aborto espontáneo. Nueve de estas pacientes (17.8 por ciento) presentaron concentraciones mayores de 20 GPL y MPL. Otras 9 (17.8 por ciento) solo tenían concentraciones mayores de 20 unidades para uno de los dos ACA y aunque la IgG tiene mayor correlación clínica que la IgM, ambas deben estar positivas para poder relacionarlas con SAF.

Otra de las complicaciones del SAF es que puede afectar vasos de cualquier tamaño y la lesión histológica característica es un trombo blando (sin datos de inflamación). De los pacientes que ingresaron al estudio 23 ya habían sido diagnosticados con enfermedades del corazón. El 13.0 por ciento poseía concentraciones mayores de 20 unidades de ambas ACA.

Además, 74 de los pacientes padecían de presión arterial elevada y de estos 6 (8.1 por ciento) poseían concentraciones mayores de 20 unidades en ambas ACA. No es posible hacer una relación entre ambas entidades, esto debido a la baja positividad de ACA que se encontró y la amplia distribución de la hipertensión.

Con respecto al tiempo que los pacientes han padecido la enfermedad reumática, se observó una mayor prevalencia de anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM en pacientes de más de 5 años de padecer la enfermedad. Esto es debido a que las concentraciones de anticuerpos van aumentando a medida que la enfermedad reumática progresa. Por lo tanto, entre mayor sea el tiempo evolución de la enfermedad mayor es la probabilidad que existe de que se formen estos anticuerpos y mayor es la probabilidad de llegar a padecer un episodio trombótico. Si estos anticuerpos son detectados tempranamente y antes del establecimiento de la enfermedad reumática se tiene un mayor margen de tiempo para tratar al paciente.

X. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de anticuerpos anticardiolipina (ACA) en pacientes atendidos en la clínica de Reumatología de la Consulta Externa del Hospital General San Juan de Dios es de 12.7 por ciento con un IC 95%, los intervalos son de 10.28 a 15.12
2. La prevalencia de ACA-IgG es de 32.3 por ciento, mientras que la prevalencia de ACA-IgM en dichos pacientes es de 24.9 por ciento ambas prevalencias se realizaron con un IC 95%, los intervalos de confianza son para ACA IgG de 24.64, 38.96, mientras que los de IgM son de 18.75, 31.05.
3. La enfermedad que presentó mayor prevalencia de ACA es el LES, con un 13.8 por ciento para IgG y un 11.1 por ciento para IgM.
4. El 13 por ciento de los pacientes con enfermedades del corazón como infarto, EPOC, soplo en el corazón, fueron positivos para ACA IgG e IgM.
5. La mayor prevalencia de ACA fue encontrada en pacientes con más de cinco años de que la enfermedad reumática fuera diagnosticada.
6. Se informó a los médicos tratantes de los resultados obtenidos, los cuales al examinar la sintomatología clínica del paciente decidió si era o no necesario el iniciar tratamiento preventivo.
7. Es necesario realizar de rutina a los pacientes que presenten enfermedades reumáticas, como LES u otras, anticuerpos anticardiolipina, para evitar la aparición del síndrome antifosfolípido, debido a la prevalencia que se encontró en los pacientes estudiados.

XI. RECOMENDACIONES

1. Investigar los aspectos clínicos de los pacientes con ACA positivos y mantenerlos bajo observación para tratarlos si fuese necesario.
2. Realizar la prueba de anticoagulante lúpico a los pacientes que presentaron concentraciones mayores de 20MPL y 20 GPL, ya que se reportó que la determinación de ACA es muy sensible pero posee menor especificidad.
3. Realizar la medición de ACA como prueba de rutina en los pacientes que asisten a consulta a la Clínica de Reumatología de la Consulta Externa del Hospital General San Juan de Dios.
4. Realizar la prueba de ACA cada vez que la enfermedad reumática se reactive para poder detectar un incremento en estos y poder ser tratados a tiempo.

XII. REFERENCIAS

1. Izquierdo, M; Avellaneda, A. Antifosfolípido, Síndrome. Centro de investigación sobre el síndrome del aceite tóxico y Enfermedades raras.
http://cisat.isciii.es/er/prg/er_bus2.asp?cod_enf=149. Consultado: Febrero 2004.
2. González H. Diagnóstico por laboratorio del Síndrome de Anticuerpos antifosfolípido. <http://www.encolombia.com/reumatología-contenido.htm>. Consultado: Junio 2004.
3. Bick, R. y Barcker W. Síndrome antifosfolípido en pacientes críticos clasificación del síndrome antifosfolípido asociado a trombosis.
http://www.drwebsa.com.ar/smiba/revista/smiba_03/antifosfolo7.htm. Consultado: Junio 2004.
4. Investigación de Anticuerpos Antifosfolípidos (AC afl). Instituto de Análisis clínicos. <http://www.farestaie.com.ar/docs/monograf.html>. Consultado: Junio 2004.
5. Guzmán, R. Síndrome Antifosfolípido (Síndrome de Hughes).
http://www.encolombia.com/medicina/reumatologia/reuma82-01_sindrome.htm. Consultado: Julio 2004.
6. Losckshin, M; Arana, R. Anticuerpos Antifosfolípidos.
<http://www.drwebsa.com.ar/alua/antifosfo.htm>. Consultado: Febrero 2004.
7. Galarza, C; et. al. Síndrome Antifosfolípido. http://www.medicosecuador.com/reumatologia_al_dia/presentacion.htm. Consultado: Junio 2004.
8. Síndrome antifosfolípido. <http://www.iqb.es/Cardio/trombosis/patologia/sindromes.htm>. Consultado: Junio 2004.
9. Cotran RS. Kumar V. Collins T. Patología estructural y funcional. 6. ed. México: Editorial McGraw-Hill interamericana, 2001. XVII + 1475 p.
10. Bick, R. y Barcker W. Síndrome Antifosfolípido en Pacientes Críticos, criterios Diagnósticos. Revista de Reumatología. Marzo, 2003.
http://www.drwebsa.com.ar/smiba/revista/smiba_03/antifosfolo9.htm
Consultado: Diciembre de 2003.

11. Díaz, A. Síndrome Antifosfolipídico. http://www.infomed.sld.cu/revistas/hih/vol14_2_98/hih01298.htm. Consultado: Febrero 2004.
12. Garzón, J.; et. al. Búsqueda de nuevos criterios para el diagnóstico de Síndrome Antifosfolipídico. http://www.drwebsa.com.ar/smiba/med_interna/vol_03/03_05.htm. Consultado: Junio 2004.
13. Fisher, S. Mecanismos Etiopatogénicos en la Preeclamsia: Conocimientos Actuales. Septiembre, 2001.
14. Alarcon Segovia D, Cabral A: Antiphospholipid Antibodies. Where do They Come from? Where do They Go?. J Rheum 1994; 21(6): 982-89.
15. Universidad Nacional de Córdoba Facultad de Ciencias Médicas. Aborto Diferido. 2004, Disponible en: <http://www.fcm.unc.edu.ar/catedras/materno/Aborto.htm>. Consultado: Abril 2004.
16. Campos E. Diagnóstico laboratorial del Síndrome Antifosfolipidos (SA) *Laboratorio*. 2004. <http://www.laboratorio.com.mx/index.html>. Consultado: Enero 2004
17. Aguilar JA, Summerson C. Intracardiac thrombs in antiphospholipid antibody syndrome. JAM Soc Echocardiolog 2000; 13(9):873-875.
18. Granel B, *et al.* Asymptomatic intracardiac thromb and primary antiphospholipid syndrome. Cardiology 1999; 92(1):65-67.
19. Boklage CE. Survival probability of human conceptions from fertilization to term. Int J Fertil. 1990; 35:189-194.
20. Galich L. El problema del Aborto Hospitalario en Guatemala. Reporte nacional de Ginec obstetricia. Guatemala. 1981.
21. Franco H. Incidencia de Aborto. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1981.
22. Taracena E. Diagnóstico de aborto por Citología; Diferenciación entra aborto espontáneo e inducido. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Médicas) 1984.
23. Anticoagulante lúpico y Ac anticardiolipina en el síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, Unidad de reumatología Colombia. http://www.encolombia.com/reumatologia_contenido.htm. Consultado: Noviembre de 2003.

24. Wilcox AJ, *et al.* Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 1988; 319:189-194.
25. Molina JF. *Anticuerpos antifosfolípidos y embarazo.* Universidad pontificia boliviana-UPB. <http://www.encolombia.com/medicina/reumatologia/reuma8301anticuerpos2.htm>. Consultado: Enero 2004.
26. Bick, R. y Barcker W. Síndrome antifosfolípido en pacientes críticos Asociaciones más controvertidas. http://www.drwebsa.com.ar/smiba/revista/smiba_03/antifosfolo6.htm. Consultado Febrero 2004.
27. Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos durante el embarazo. <http://www.tocogineonet.com.ar>. Consultado: Enero de 2004
28. Branch E, *et al.* Antiphospholipid antibodies other than lupus anticoagulant and anticardiolipin antibodies in women with recurrent pregnancy loss, fertile controls and antiphospholipid syndrome. *Obstet Gynecol* 1997; 89:549-555.
29. Bick, R. y Barcker W. Síndrome antifosfolípido en pacientes críticos tratamiento. http://www.drwebsa.com.ar/smiba/revista/smiba_03/antifosfolo8.htm. Consultado: Febrero 2005.
30. Lupus Eritematoso Sistémico Revisión de la Literatura. Sosa La cruz, Lucio Manuel. <http://www.odontomarket.com/casos/lupus.asp>. Consultado: Julio 2004.
31. Stites D. Terr A. Parslow T. *Inmunología básica y clínica.* 9. ed. México: Editorial Manual Moderno, 2000. XIX + 1080 (p. 547-575).
32. Bowie EJW, *et al.* Thrombosis in systemic lupus erythematosus despite circulating anticoagulants. *J Clin Invest* 1963; 62:416-430.
33. Tan EM y cols.: The revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus *Arthritis Rheum.* 40:1725, 1997.
34. *The Journal of Rheumatology.* Volumen 2. No. 3. Marzo 2001. Pp.5520 .
35. Klippel J. *Principios de las enfermedades reumáticas.* 11. ed. Atlanta, Estados Unidos: Arthritis Foundation, 1997. (p. 1-5, 179-180, 323-324, 301-303, 356, 283).
36. William K. *Textbook of rheumatology.* 4. ed. Estados Unidos: Editorial Saunder, 1993. (p. 1942.)
37. Harris EN, *et al.* Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Lancet* 1983;2:1211-1214.

38. Loizou S, *et al.* Measurement of cardiolipin antibodies by an enzyme-linked immunosorbent assay: standarization and quantitation of results. *Clin Exp Immunol* 1985; 62:739-744.
39. Inserto QUANTA Lite TM ACA IgG III, Determinación de Anticuerpos Anticardiolipina por ELISA. Abril 2005.
40. Inserto QUANTA Lite TM ACA IgM III, Determinación de Anticuerpos Anticardiolipina por ELISA. Marzo 2005.
41. Rivas, C. Prevalencia de Anticoagulante Lúpico en mujeres embarazadas que asisten al Instituto de Seguridad Social (IGSS). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2006.
42. Oliva, G. Presencia de Anticoagulante Lúpico en pacientes que asisten a la Liga del Corazón. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, (Tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2006.
43. Wisloff F, Jacobsen EM, Liestol S. Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Thrombosis research* 2003. p. 108 (p.263-271).
44. McIntyre JA, Wagenknecht DR, Faulk WP. Antiphospholipid antibodies: discovery, definitions, detection and disease. *Progress in Lipid Research*, 2003. (p.176-237)
45. Vives Icorrons J. Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología. Barcelona, España: Ediciones Científicas Técnicas S.A. (p.411-427)
46. García SM. Manual de Hematología. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Laboratorio Clínico Popular-LABOCLIP. (p.2-4, 28-34)
47. The VII th International Symposium on Antiphospholipid Antibodies, Octubre 1996. Louisiana USA.

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Manifestaciones Cutáneas en el SAF.



Anexo 2. Paciente de 53 años con síndrome antifosfolípídico con úlceras en ambos pies desde los doce años de edad. Obsérvese las úlceras recientes y más antiguas, las cicatrices blancas y el Livedo Reticularis características del síndrome 15.



Anexo 3. Regímenes de tratamiento recomendada para la trombosis asociada a síndrome Antifosfolípido.

Régimen de Anticoagulación Recomendada para Trombosis Asociada a Síndrome Antifosfolípido	
Tipo I	Heparina intravenosa o subcutánea, seguido de anticoagulación a largo plazo.
Tipo II	Heparina intravenosa o subcutánea, seguido de anticoagulación a largo plazo.
Tipo III	Cerebrovascular: anticoagulación con warfarina más bajas dosis de aspirina 2 veces por día (a largo plazo). Retiniana: anticoagulación con warfarina idem anterior más pentoxifilina 400 mgs. 4 veces por día.
Tipo IV	Depende de las manifestaciones trombóticas.

Anexo 4. Consentimiento Informado.

Prevalencia de Anticuerpo Anticardiolipina (AAC) en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) y enfermedades asociadas

Hospital de General San Juan de Dios (HGSJDD), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,
Universidad de San Carlos de Guatemala

Identificación: Este estudio está siendo conducido por la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y el Hospital de General San Juan de Dios (HGSJDD). Usted está invitado (a) a participar como voluntario (a) dentro de un estudio que trata sobre pruebas de sangre para determinar anticuerpo anticardiolipina y anticoagulante lúpico que intervienen en un síndrome denominado SAF.

Procedimientos: Durante el estudio será entrevistada acerca de usted, su familia, enfermedad y farmacoterapia. Además se le solicitará consentimiento para revisar su historial médico. La información recolectada será parte de su historia clínica y será confidencial. Su participación en este estudio será completamente voluntaria y confidencial. Se le extraerán 10 mL de sangre que equivalen a 2 cucharaditas y se le pedirá asistir a una plática de información.

Riesgos: No existen riesgos específicos relacionados con su participación en este estudio. Cuando se le realice la extracción de sangre puede sentir un pinchazo o sensación de picadura. Posteriormente puede quedarle morada el área de punción.

Beneficios: Si usted desea participar, su médico recibirá información acerca de su condición, tratamiento y prevención de efectos no deseados. Su participación ayudara a adquirir una mejor perspectiva de dicha enfermedad.

Confidencialidad: Su información será mantenida en la confidencialidad de acuerdo a la práctica médica estandar. Su nombre no será utilizado en ningún reporte o publicación resultante de este estudio. La información de este estudio será codificada y guardada en archivos a los cuales únicamente tendrá acceso el personal médico cuando sea necesario.

Consideraciones financieras: Su participación en el estudio no implicará ningún gasto para usted. No se le dará ninguna compensación directa por participar en el estudio.

Preguntas: Si usted tiene alguna pregunta o problema relacionado con el estudio, por favor no dude en contactar a Gabriela Raxcacó al teléfono:

Participación voluntaria: Su participación en el estudio es voluntaria. Usted puede decidir no ser parte del estudio o salir de el en cualquier momento y sin ningún prejuicio en su tratamiento médico.

Consentimiento:

1. Yo reconozco que mi participación en este estudio es voluntaria. Tengo la libertad para participar o salir del estudio en cualquier momento.
2. Yo doy el permiso a los investigadores de este estudio para usar la información obtenida en el cuestionario y concedo el acceso a mi archivo del hospital.

Nombre del paciente					Firma o huella digital del Paciente o familiar			Fecha	
Nombre de quien obtuvo el consentimiento					Firma de quien obtuvo el consentimiento			Fecha	
No. Cédula	-								
					Código				

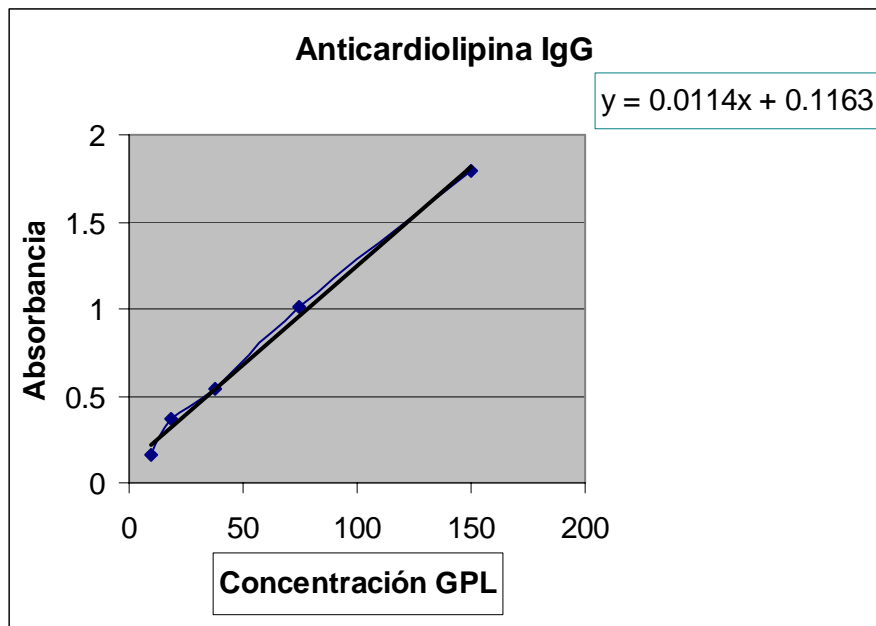
Anexo 5. Ficha epidemiológica

Código

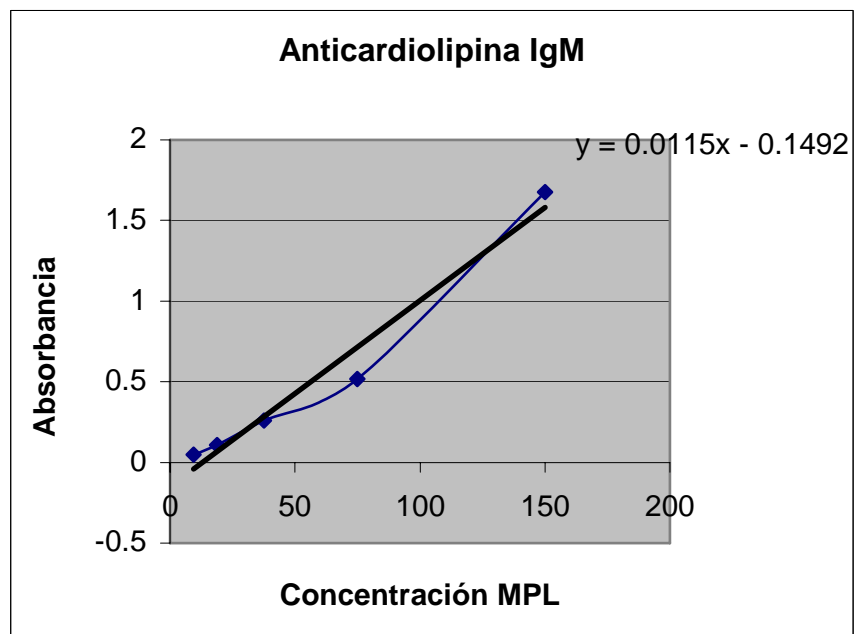
Prevalencia de Anticuerpo Anticardiolipina (AAC) en pacientes que asisten a la consulta externa del hospital General San Juan de Dios (HGSJDD)

Marcar con una "X" el cuadro de la opción que considere se adapte a su situación.						
1. ¿Qué enfermedad reumática padece?	Lupus Eritematoso Sistémico	<input type="checkbox"/>	Artritis Reumatoidea	<input type="checkbox"/>	Síndrome de Sjörgen	<input type="checkbox"/>
	Esclerosis Sistémica	<input type="checkbox"/>	Otros	<input type="checkbox"/>		
3. ¿Hace cuanto tiempo padece la enfermedad reumática?	Menos de un año	<input type="checkbox"/>	1-5 años	<input type="checkbox"/>	Más de 5 años	<input type="checkbox"/>
4. Género	Femenino	<input type="checkbox"/>	Masculino	<input type="checkbox"/>		
5. ¿Número de hijos muertos a consecuencia de aborto?	Ninguno	<input type="checkbox"/>	1 a 2	<input type="checkbox"/>	3 ó más	<input type="checkbox"/>
6. ¿Padece de alguna enfermedad cardíaca?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>	Especifique	
7. ¿Ha tenido problemas de presión arterial?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
8. Si su respuesta anterior fue si, ¿Qué tipo?	Presión alta	<input type="checkbox"/>	Presión baja	<input type="checkbox"/>	No sabe	<input type="checkbox"/>
9. ¿Sabe usted si le han realizado pruebas de coagulación sanguínea?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
10. Si respuesta anterior fue si, marque las pruebas que cree le han sido realizadas	Recuento plaquetas	<input type="checkbox"/>	Tiempo coagulación	<input type="checkbox"/>	Tiempo de sangría	<input type="checkbox"/>
	TP	<input type="checkbox"/>	TTP	<input type="checkbox"/>	TVVRd	<input type="checkbox"/>
	Otras	<input type="checkbox"/>				
11. ¿Utiliza o ha utilizado drogas por vía intravenosa?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
12. ¿Alguna vez ha tenido dolor de pecho, dificultad para respirar, infarto o alguna enfermedad cardíaca?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
13. ¿Padece usted de dolores de cabeza fuertes, pérdida de conocimiento, migraña o dolor de articulaciones?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
14. ¿Ha tenido enfermedades de la sangre, hemofilia o hemorragias?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
15. ¿Ha tomado algún medicamento en el último mes?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
16. Si su respuesta anterior fue si, marque si toma alguno de los siguientes medicamentos	Procainamida	<input type="checkbox"/>	Hidralacina	<input type="checkbox"/>	Cloropromacina	<input type="checkbox"/>
	Quinidina	<input type="checkbox"/>	Isoniacida	<input type="checkbox"/>	Metildopa	<input type="checkbox"/>
	Otros	<input type="checkbox"/>				
	¿Cuáles?	<hr/>				
17. ¿Tuvo o fue tratada por enfermedades infecciosas como sífilis, rubéola o varicela?	Si	<input type="checkbox"/>	No	<input type="checkbox"/>		
18. ¿Ha tenido pérdida de peso inexplicable, manchas rosadas en la piel, fiebre por más de 10 días, sudores nocturnos, diarreas o manchas blancas en la boca?						

Anexo 6. Gráfica de calibración de ACA IgG



Anexo 7. Gráfica de calibración de ACA IgM



Gabriela Anaité Raxcacó Rodas
Tesisista

Licda. Ana Margarita Paz
Asesora

Lic. Herberth Arévalo
Asesor

Dr. Jaime Cáceres
Asesor

Licda. Alba Marina Váldez de García
Revisora

M.Sc. Vivian Matta Ríos de García
Revisora

M.Sc. Vivian Matta Ríos de García
Directora

Oscar Cobar Pinto Ph.D.
Decano