



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS E INVESTIGACIÓN

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN:

***“RELACIÓN DE CONCENTRACIONES SÉRICAS DE SP-D EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO
SISTÉMICO CON Y SIN ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS”***

Presenta:

Mayra Esther Rojas Quintana

Director de Tesis

D. C. Luis Guillermo Vázquez de Lara Cisneros

Codirectores

D.C. Mario García Carrasco

D.C. Claudia Mendoza Pinto

Departamento de Investigación y Estudios de Posgrado de la Benemérita Universidad Autónoma
de Puebla.

Puebla, Pue.

Noviembre, 2019.

DIRECTORES DE TESIS

D.C. Luis Guillermo Vázquez de Lara Cisneros

D.C. Mario García Carrasco

D.C. Claudia Mendoza Pinto

Sello de la maestría

REVISORES DE TESIS

D.C. Irma del Carmen Zamora Gínez

D.C. Blanca Guadalupe Báez Duarte

M.C.M.I. José Luis Gálvez Romero

AGRADECIMIENTOS GENERALES

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo de beca brindado para la realización de esta tesis, así como a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por la oportunidad que me dio para poder cursar la maestría en ciencias médicas e investigación y al Instituto Mexicano del Seguro Social, por brindar las facilidades para que este proyecto se pudiera llevar a cabo.

También agradezco a mi tutor D.C: Luis Guillermo Vázquez de Lara Cisneros y a mis codirectores D.C. Mario García Carrasco y D.C. Claudia Mendoza Pinto por el apoyo brindado para la realización de esta tesis, y a la M.C. Beatriz Tlatelpa por su apoyo en el área de laboratorio.

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo a mis padres Aaron y Estela y a mi hermana Lety por estar conmigo en cada paso de mi vida y por su apoyo incondicional, sin el cual no podría haber conseguido este logro. A Gustavo, por el constante ánimo y amor ante todas las adversidades que hemos conseguido librar juntos, a mis abuelos Valente e Inés dos de los pilares más fuertes en mi vida y a mis tíos, tías y primos por hacer de mi familia un soporte más. Gracias.

RESUMEN

Introducción. El lupus eritematoso sistémico (LES), es una enfermedad autoinmune en la cual se forman autoanticuerpos contra varios componentes celulares. Hasta el 41 % de los pacientes con esta patología, presentan síndrome antifosfolípido (SAF), una forma especial de trombofilia inducida por autoanticuerpos, que se caracteriza por trombosis recurrente, complicaciones del embarazo y presencia de anticuerpos antifosfolípido (APL). Uno de los órganos más afectados es el pulmón. La respuesta del daño pulmonar debido a patologías autoinmunes, especialmente debido a la combinación LES más SAF no ha sido estudiado, se sabe que involucra diversos mecanismos, entre los cuales aparecen biomarcadores como la proteína surfactante D, componente del surfactante pulmonar cuya principal función es la inmunidad.

Objetivo: comparar las concentraciones de SP-D en pacientes con lupus con y sin la presencia de síndrome antifosfolípido.

Metodología: Se tomaron 64 pacientes de la consulta externa de reumatología del IMSS diagnosticados con LES, se tomaron 32 pacientes con antecedente de APL positivos y 32 controles con antecedente de APL negativos, a ambos grupos se les midió la concentración de SP-D y la presencia de SAF y se relacionaron ambas variables.

Resultados: Se detectaron 28 pacientes con LES sin antecedente de SAF, 10 pacientes con antecedente de SAF, pero con APL positivos y 16 con antecedente de SAP seronegativos para APL (SAF seronegativo). Se trabajó con una muestra de 54 pacientes. En el grupo de LES sin SAF, los niveles de SP-D fueron de 4.6 ± 7.9 ng/ml; en el grupo de pacientes con LES y SAF seronegativo, 3.4 ± 6 ng/ml; en contraste, los pacientes con lupus y SAF, los niveles de SP-D fueron de 20.8 ± 14.7 ng/ml. Existió diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el grupo de pacientes con SAF y los otros dos grupos (LES sin SAF y LES con SAF seronegativo). El análisis multivariado no mostró relación con actividad de la enfermedad, tabaquismo, daño a órgano y síntomas respiratorios.

Conclusiones: La presencia de SAF aumenta las concentraciones séricas de SP-D, lo cual implica que puede existir riesgo de desarrollar alteraciones pulmonares al tener la asociación LES más SAF. Los pacientes con SAF mostraron más síntomas respiratorios; sin embargo, estos no correlacionaron con las concentraciones de SP-D. Los niveles de SP-D no correlacionaron con tiempo de evolución, daño a órgano, actividad de la enfermedad ni tabaquismo.

ÍNDICE

DIRECTORES DE TESIS.....	ii
REVISORES DE TESIS	iii
AGRADECIMIENTOS GENERALES.....	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
LISTA DE CUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABLAS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
ANTECEDENTES	1
ANTECEDENTES GENERALES	1
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.....	1
SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO (SAF)	4
ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS (APL)	7
NEUMOPATIAS INTERSTICIALES DIFUSAS	7
SURFACTANTE PULMONAR.....	9
ANTECEDENTES ESPECIFICOS	10
FISIOPATOLOGÍA DE DAÑO PULMONAR POR PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDOS..	10
PROTEINA SURFACTANTE D (SP-D) EN LES.....	12
PROTEINA SURFACTANTE D (SP-D) EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES	12
SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO Y LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.....	12
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
JUSTIFICACIÓN.....	15
HIPÓTESIS	16
OBJETIVOS	17
OBJETIVO GENERAL.....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
METODOLOGÍA.....	18
METODOLOGÍA PARA CADA OBJETIVO ESPECÍFICO.....	19
PARA OBJETIVO ESPECÍFICO 1	19
PARA OBJETIVO ESPECÍFICO 2	20
TAMAÑO DE LA MUESTRA	20

ANÁLISIS ESTADÍSTICO	21
RESULTADOS	22
ANÁLISIS DE LA MUESTRA	22
ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES DEMOGRÁFICAS TOTAL Y POR GRUPOS.	23
ANÁLISIS DE LAS VARIABLES RELACIONADAS CON EL LES EN TODA LA POBLACIÓN Y POR GRUPOS..	23
PRIMERAS MANIFESTACIONES DEL SAF	28
EFECTO DE LA PRESENCIA DE SAF SOBRE LOS NIVELES DE SP-D.....	28
AJUSTE PARA OTRAS VARIABLES	32
FRECUENCIA DE SÍNTOMAS RESPIRATORIOS EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO	33
DISCUSIÓN.....	35
LIMITACIONES DEL ESTUDIO	36
PERSPECTIVAS A FUTURO.....	37
CONCLUSIONES	38
BIBLIOGRAFÍA	39
ANEXOS	41
ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO	41
ANEXO 2. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS	44
ANEXO 3. ÍNDICE SLEDAI	46
ANEXO 4. ÍNDICE SLICC.....	48
ANEXO 5. HOJA DE REGISTRO	50
ANEXO 6. CUADRO DE VARIABLES DE ESTUDIO.....	51
ANEXO 7. ASPECTOS ÉTICOS	53
ANEXO 8. LOGÍSTICA	54
RECURSOS HUMANOS.....	54
RECURSOS MATERIALES	54
RECURSOS FINANCIEROS.....	54

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Criterios de clasificación del lupus eritematoso sistémico según el colegio americano de reumatología.....	3
Cuadro 2. Criterios de clasificación para síndrome de anticuerpos antifosfolípidos.....	6
Cuadro 3. Clasificación de las enfermedades pulmonares intersticiales difusas (EPID) según el consenso ats/ers 2002.....	8
Cuadro 4. Posibles mecanismos de la trombosis mediada por autoanticuerpos en el SAF	11
Cuadro 5. Manifestaciones pulmonares más frecuentes en LES, SAF y la asociación de ambas.	13

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Flujograma de selección de los pacientes que participaron en el estudio.	22
Figura 2. Comparación de los niveles de SP-D en grupos de acuerdo con la presencia de SAF; grupo 1: LES sin SAF, grupo 2: LES con SAF	29
Figura 3. Histograma de los niveles de SP-D en la población de estudio.	30
Figura 4. Pacientes con SP-D alta en grupo LES sin SAF y grupo LES con SAF. El asterisco indica una $p < 0.05$ (χ^2).	31
Figura 5. Concentración de SP-D de acuerdo a la medición actual de APL; grupo 1: LES sin antecedente de SAF; grupo 2: LES con antecedente de SAF con APL (-); grupo 3: LES con SAF.....	32
Figura 6. Presencia de síntomas respiratorios en cada grupo de estudio; grupo 1: LES sin antecedente de SAF; grupo 2: LES con antecedente de SAF.	34

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Variables demográficas de los pacientes de la muestra (n=54)	24
Tabla 2. Variables descriptivas de pacientes de los 2 grupos. (n=54)	25
Tabla 3. Variables relacionadas al LES de pacientes de toda la muestra (n=54).....	26
Tabla 4. Variables relacionadas al LES en los 2 grupos (n=54).....	27
Tabla 5. Primera manifestación clínica de los pacientes con SAF (n=10).....	28
Tabla 6. Ajuste de la concentración de SP-D con otras variables de interés.	33

LISTA DE ABREVIATURAS

LES Lupus eritematoso sistémico

SLEDAI Del inglés Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Measure

MEX-SLEDAI Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Measure versión México; Medición de la actividad de la enfermedad del lupus eritematoso sistémico

ACR Colegio americano de reumatología

SAF Síndrome antifosfolípido

IGG Inmunoglobulina G

IGM inmunoglobulina M

INR Razón Normalizada Internacional

APL Anticuerpos antifosfolípidos

NID Neumopatía intersticial difusa

FPI Fibrosis pulmonar idiopática

PRR Receptor de reconocimiento de patrones

SP Del inglés surfactant protein; proteína surfactante

SP-D Proteína Surfactante D

TTPa Del inglés activated partial tromboplastin time; tiempo parcial de tromboplastina

UMAE Unidad médica de alta especialidad

IMSS Instituto mexicano del seguro social

ANTECEDENTES

ANTECEDENTES GENERALES

LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune la cual tiene un curso que varía con cada individuo, se caracteriza por la producción de anticuerpos dirigidos a los núcleos de las células, citoplasma y superficie celular, también se ha encontrado una mala regulación y sobre activación de las células apoptóticas lo cual produce una sobreexpresión de autoantígenos los cuales bajo circunstancias normales no son destruidos por el sistema inmune. (1)

El LES tiene una incidencia de 1 a 10 por cada 10,000 personas al año, y una prevalencia del 20 a 70 por cada 100,000, afecta ambos sexos y diferentes edades, pero predomina en mujeres en edad fértil y en afroamericanos, es muy raro en niños menores de cinco años. El lupus eritematoso sistémico juvenil representa del 15 al 20% de todos los casos de lupus y es más severo ya que presenta enfermedades hematológicas las cuales aumentan la mortalidad.(1)

Esta enfermedad puede coexistir con otras enfermedades autoinmunes como anemia hemolítica, púrpura trombocitopénica inmunológica y tiroiditis. (2). Las primeras manifestaciones patológicas del LES son inflamación, depósito de inmunocomplejos y daño al tejido en distintos órganos principalmente riñón, piel, y articulaciones; las características básicas de la patología del LES son la inflamación de los vasos sanguíneos, los cuales pueden llegar a ocluir y ocasionar vasculopatías por depósito de complejos inmunes, también la proliferación de las células mesangiales en el riñón ocasionando anomalías de la membrana de igual manera por depósito de inmunocomplejos y la deficiencia de los componentes de la vía clásica del complemento provocan que la enfermedad sea más agresiva y que progrese de una forma más rápida. (2)

Medir la actividad y el daño a órgano que ocasiona el LES, es muy importante en el seguimiento de los pacientes con LES, tanto para evaluar el pronóstico como la calidad de vida de los pacientes, y también sirve para validar la respuesta a los tratamientos, para esto, se han creado varias escalas que nos permiten hacer el seguimiento de los pacientes, las más usadas en nuestro país son SLEDAI y MEX-SLEDAI (del inglés: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Measure), el SLEDAI fue creado en Toronto en 1986 y existe la versión mexicana, la cual fue desarrollada por investigadores mexicanos para disminuir costos, ya que en esta versión se excluyeron algunos valores de laboratorio, para poder comprobar la validez de la versión

mexicana, se compararon MEX-SLEDAI y SLEDAII, la correlación entre 2 evaluadores calculando éstos índices fue entre 0.87 y 0.89; el acuerdo para la valoración de la enfermedad entre los médicos participantes fue moderado con una kappa de 0.43 ($p= 0.17$); la validez de constructo se evaluó comparando con la valoración global del médico (VGM), en donde se obtuvo una correlación casi idéntica de 0.68; también se ha evaluado la validez de criterio usando como estándar de oro SLEDAI-2K, se vio que la sensibilidad del MEX-SLEDAI fue del 58% y la especificidad del 93% (3).

Los índices nos pueden indicar si hay actividad de la enfermedad y si existe afección de algún órgano debido al lupus, esto es importante, ya que la afección de órganos afecta tanto la morbilidad como la mortalidad de los pacientes. Dentro de las afecciones más frecuentes, La afección del tórax en pacientes con lupus se observa alrededor de un 50 a 100% Y ésta se representa más frecuentemente por enfermedades pleurales e infecciones (4). La afección pulmonar es frecuente en el LES, y afecta pleura, vasos y parénquima, la hemorragia pulmonar es otra manifestación, así como fibrosis pulmonar, disfunción del diafragma, edema pulmonar y síndrome del pulmón pequeño(5).

Los anticuerpos Anti-DNA y Anti-Sm se encuentran en un 95% de los pacientes y son los más comunes; sin embargo, para medir la actividad de la enfermedad se utiliza la medición del C1q principalmente para valorar el grado de daño al riñón, estos anticuerpos son tomados en cuenta para el diagnóstico de un paciente con LES (6).

El colegio americano de reumatología (ACR) en 1997 validó criterios de clasificación, y estableció que se diagnostica lupus eritematoso sistémico al contar con al menos cuatro de los 11 criterios (incluyendo al menos un criterio clínico y una inmunológico). (mostrado en cuadro 1) (7).

A través de los años el tratamiento del LES ha ido creciendo progresivamente y se han creado nuevas terapias para las distintas manifestaciones de la enfermedad, dentro de las que se encuentran drogas inmunosupresoras: el micofenolato y la ciclofosfamida son los medicamentos de elección, estos reducen la producción de células del plasma, lo que disminuye el depósito de inmunocomplejos. Bloqueadores de células B: el rituximab es el medicamento de elección ya que induce la depresión de células B, así como algunos receptores para las mismas (6).

Cuadro 1. Criterios de clasificación del lupus eritematoso sistémico según el colegio americano de reumatología.

Criterio	Definición
1.Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares, respetando los pliegues naso labiales
2.Rash discoide	Zonas eritematosas elevadas con escamas queratóticas adherentes y taponamiento folicular. En las lesiones antiguas puede producirse cicatrización atrófica.
3.Fotosensibilidad	Erupción cutánea desproporcionada tras exposición a luz solar, por historia u observado por el médico
4.Úlceras orales	Úlceras orales o nasofaríngeas, normalmente indoloras, observadas por el médico
5. Artritis	Artritis en dos o más articulaciones periféricas, con inflamación, derrame sinovial o de lo de la palpación.
6. Serositis	Pleuritis: historia clínica convincente, roce auscultado por un médico o demostración de derrame pleural. Pericarditis: documentada por ECG, roce auscultado por un médico o demostración de derrame pericárdico.
7. Nefropatía	Proteinuria persistente superior a 0.5 g/día o >3+ si no sea cuantificado. Cilindruria: de hematíes O hemoglobina, cilindros granulosos, tubulares o mixtos.
8. Alteración neurológica	Convulsiones o psicosis, en ausencia de trastornos metabólicos, electrolítico o de forma que las puedan producir.

Fuente: Tomado de García, 2002 (7)

Cuadro 1. Criterios de clasificación del lupus eritematoso sistémico según el colegio americano de reumatología.

Criterio	Definición
9. Alteración hematológica	Anemia hemolítica con reticulocitosis o leucopenia <de 4000/mm ³ en ≥ 2 ocasiones o linfopenia <de 1500/mm ³ en ≥ 2 ocasiones o trombocitopenia <de 100000/mm ³ no secundaria a fármacos.
10. Alteración inmunológica	Anti DNA positivo o Anti Sm positivo o anticuerpos antifosfolípidos positivos basado en 1) anticuerpos anticardiolipinas IgG o IgM (+) a títulos medios o altos; 2) anticoagulante lúpico (+) o serología luética falsamente (+) durante al menos seis meses
11. Anticuerpos antinucleares positivos	Título anormal de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia o por otro test equivalente en ausencia de fármacos capaces de producir lupus inducido por los mismos.

Para el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico son necesarios cuatro de estos 11 criterios, no necesariamente simultáneos.

Fuente: Tomado de García, 2002 (7)

SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO (SAF)

El síndrome antifosfolípido (SAF) es una enfermedad autoinmune la cual afecta diversos órganos y sistemas. Se caracteriza por trombosis, trombocitopenia, y pérdidas de embarazo recurrentes, los cuales están asociados a la presencia de anticuerpos antifosfolípidos (APL); los anticuerpos APL están presentes en mujeres sanas de uno al 5%, mientras que en las mujeres que presentan pérdidas recurrentes del embarazo están presentes en aproximadamente 15%(8). Los pacientes con LES tienen 41% de riesgo de presentar el síndrome antifosfolípido con una mortalidad del 5% y se estima que tiene una prevalencia de 40 a 50 por cada 100,000 personas (9).

Dentro de la patogénesis de la enfermedad se encontró que las células endoteliales, los monocitos, las plaquetas, y la inducción de la cascada del complemento se encuentran activados por anticuerpos, algunos autores proponen que después de que células antes mencionadas se activan se induce un estado procoagulante, el cual es mediado por el factor tisular y tromboxano A, en pacientes embarazadas esta fisiopatología provoca una disfunción de la placenta, lo que resulta en la pérdida recurrente del embarazo (8).

Gran parte del daño a órgano causado por el SAF está relacionado con la formación de trombos, dentro de las manifestaciones clínicas del SAF está la pérdida recurrente del embarazo frecuentemente en el primer trimestre, también la trombosis tanto de sistema venoso como de sistema arterial, otra manifestación es el daño neurológico debido a un infarto isquémico (hasta en el 19.8% de los pacientes), este problema ocurre principalmente en la arteria cerebral media. Las manifestaciones del sistema cardiovascular ocurren en forma de aterosclerosis, infarto agudo al miocardio y síndrome coronario agudo; dentro de las manifestaciones dermatológicas, la más común es el livedo reticularis, el cual consiste en una coloración violácea de la piel en patrones de red, aunque también se pueden presentar vasculitis necrotizante, pulseras cutáneas y nódulos cutáneos dolorosos. Probablemente una de las manifestaciones más graves es la enfermedad renal, en la cual existe una trombosis, la cual lleva a hipertensión renal y oclusión fibrocelular; la hipertensión se presenta hasta en el 93% de los pacientes con enfermedad renal por SAF (10).

Las complicaciones pulmonares más frecuentes en este síndrome son el tromboembolismo pulmonar y la hipertensión pulmonar tromboembólica, seguidas de manifestaciones no tromboticas como hipertensión pulmonar no tromboembólica, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda y hemorragia alveolar (11).

El diagnóstico depende de la presencia de anticuerpos antifosfolípidos o del anticoagulante lúpico. Es importante recalcar que el diagnóstico debe hacerse de acuerdo a las manifestaciones clínicas que se encuentren bien documentadas en el expediente del paciente, a las pacientes que por pérdida de embarazo recurrente se sospeche que tengan SAF, se deben solicitar también anticuerpos anticardiolipina para los isotipos IgG e IgM; si los anticuerpos anticardiolipina son positivos altos o el anticoagulante lúpico es positivo, el diagnóstico es SAF, por otro lado, si la anticardiolipina es positivo bajo, hay que repetir, si da nuevamente bajo, el diagnóstico es SAF pero debe hacerse prueba con Elisa, si los anticuerpos anticardiolipina y anticoagulante lúpico son negativas, el diagnóstico es negativo (12). Existen para el diagnóstico

los criterios de Sapporo, los cuales fueron creados en el año 2006 en Sydney Australia, y son los criterios que se usan actualmente para diagnosticar síndrome antifosfolípido. (cuadro 2) (13).

Cuadro 2. Criterios de clasificación para síndrome de anticuerpos antifosfolípidos	
<u>Criterios clínicos</u>	
Trombosis vascular	Uno o más episodios clínicos de trombosis arterial, venosa, o de pequeños vasos, confirmados de forma objetiva, que ocurren en cualquier tejido u órgano.
Complicaciones del Embarazo	Perdida fetal: una o más muertes inexplicables de un feto morfológicamente normal, a la semana 10 o más de gestación; o uno o más nacimientos prematuros morfológicamente normal a la semana 34 o antes debido a pre eclampsia grave, eclampsia o insuficiencia placentaria grave; o tres o más abortos espontáneos consecutivos no explicados, antes de la décima semana de gestación, una vez excluidas causas cromosómicas paternas o maternas y anormalidades hormonales o anatómicas maternas
<u>Criterios del laboratorio</u>	
Anticuerpos anticardiolipina	Anticuerpos anticardiolipina IgG o IgM presentes en niveles moderados o elevados en sangre en dos o más ocasiones, separados por lo menos 6 semanas.
Anticoagulantes lúpico	Anticuerpos anticoagulantes lúpico detectados en sangre en dos o más ocasiones separados por al menos 6 semanas.
El diagnóstico definitivo de síndrome antifosfolípidos requiere de presencia de al menos uno de los criterios clínicos y al menos uno de los criterios de laboratorio.	

Fuente: Tomado de Miyakis, 2006 (13)

La meta principal del tratamiento en pacientes con anticuerpos antifosfolípidos es la prevención de la trombosis. Existen dos cuadros clínicos diferentes: 1) pacientes con síndrome antifosfolípido que han tenido un evento trombotico, y 2) portadores de los anticuerpos antifosfolípidos sin trombosis previas que pueden ser asintomáticos o con LES (8). Para los primeros pacientes se debe dar tratamiento antitrombótico de acuerdo al INR (Razón Normalizada Internacional; resultado de la determinación del tiempo de protrombina en todo el mundo); para los pacientes con lupus se dará trombo profilaxis con hidroxiquina y para los

pacientes portadores asintomáticos bajas dosis de aspirina, las futuras terapias aún en estudio incluyen la aspirina combinada con clopidogrel en pacientes que han sufrido eventos trombóticos (8).

ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS (APL)

Los anticuerpos antifosfolípido son un grupo heterogéneo de autoanticuerpos dirigidos contra los fosfolípidos y los complejos proteínas fosfolípidos, son medidos por inmunoensayo; existen 3 bien descritos y validados, los cuales se incluyen en los criterios de Sydney, estos incluyen como ya se mencionó antes anticuerpos anticardiolipina (IgG e IgM), anticoagulante lúpico y $\beta 2$ Glicoproteína (14).

Además de la oclusión vascular, los APL han sido asociados con una gran variedad de manifestaciones clínicas que son llamadas no clásicas, tales como trombocitopenia, anemia hemolítica, *livedo reticularis*, corea, mielitis transversa, epilepsia, enfermedad de la válvula cardíaca y otras manifestaciones; muchas de estas enfermedades se asocian a la presencia de los APL, pero no son específicas del SAF y no están incluidas como criterios clínicos independientes, las manifestaciones “no clásicas” más comunes son las hematológicas (39%), las cutáneas (25%) y los trastornos neurológicos no trombóticos (16%) (15).

NEUMOPATIAS INTERSTICIALES DIFUSAS

Las neumopatías intersticiales difusas (NID) constituyen un grupo heterogéneo de entidades clinicopatológicas que presentan manifestaciones clínicas similares y afectan de forma difusa al parénquima pulmonar, se conocen más de 150 causas de NID, aunque la etiología se conoce en el 30% de ellas, tienen en común la afectación del intersticio pulmonar, pero difieren en los mecanismos celulares y moleculares de su patogenia, hay NID en las que la alteración predominante es inflamación como la sarcoidosis y la neumonitis por hipersensibilidad, mientras que en el otro extremo existen enfermedades en las que predomina la fibrogenia, cuyo principal ejemplo es la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) (16).

La clasificación de las NID fue modificada por la Sociedad Torácica Americana y la Sociedad Respiratoria Europea en el 2002 (cuadro 3). Se identifican 3 categorías:

1) Neumonías intersticiales idiopáticas.

2) NID de causa conocida o asociada a otra entidad patológica definida, como por ejemplo las producidas por fármacos, polvos orgánicos (alergias extrínsecas), polvos inorgánicos (neumoconiosis), enfermedades del colágeno y hereditarias.

3) Conjunto de entidades de causa desconocida, pero con cuadro clínico patológico bien definido (17).

Cuadro 3. Clasificación de las neumopatías intersticiales difusas (NID) según el consenso ats/ers 2002.

Neumopatías intersticiales difusas
<p>Neumonías intersticiales idiopáticas. Fibrosis pulmonar idiopática (FPI) Neumonía intersticial aguda (AIP) Neumonía intersticial no específica (NSIP) Bronquiolitis respiratoria con EPID (RB-ILD) Neumonía intersticial descamativa (DIP) Neumonía criptogénica en organización COP o BOOP Neumonía intersticial linfocítica (LIP)</p>
<p>De causa conocida o asociada Asociadas a enfermedades del colágeno Causadas por polvos inorgánicos (neumoconiosis) Inducidas por fármacos y radioterapia Causadas por polvos orgánicos (alveolitis alérgica extrínseca) Asociadas a enfermedades hereditarias (enfermedad de Hermansky-Pudlak y otras).</p>
<p>Primarias o asociadas a otros procesos no bien definidos. Sarcoidosis Proteinosis alveolar Microlitiasis alveolar Linfangiolelomiomatosis Eosinofiliias pulmonares Histiocitosis X (granulomatosis de células de Langerhans) Amiloidosis Otras EPID</p>

Fuente: Tomado de Tapia, 2006 (17)

Los hallazgos más frecuentes son la tos no productiva, paroxística que no cede con antitusivos y disnea de evolución insidiosa, siendo esta última el síntoma más destacado y discapacitante, generalmente es progresiva y se encuentra presente por lo menos seis meses antes de la presentación de la enfermedad, puede existir hemoptisis, las crepitaciones finas o crujidos pueden detectarse en 80% de los pacientes (4).

La técnica más útil en el diagnóstico de la NID es la tomografía computarizada de tórax, los patrones tomográficos asociados a NID son reticulares, se distinguen formas gruesas que corresponden al engrosamiento del septo interlobar, intermedias en panal de abeja y finas que corresponden al engrosamiento del septo intralobular, el patrón nodular corresponde a lesiones aireadas, mal definidas con lesiones nodulares intersticiales con bordes definidos o difusos (4).

El incremento de la atenuación en la tomografía se debe principalmente a procesos inflamatorios, la opacidad en vidrio esmerilado ocurre en fases tempranas de la NID, en un tercio de los pacientes el patrón se asocia a fibrosis establecida; otro patrón es la condensación que borra la vasculatura y genera broncograma aéreo, el patrón en panal de abeja puede ser ocasionado por la existencia de espacios aéreos con pared definida, el cual puede ser vista en fibrosis pulmonar idiopática, y NID asociadas a enfermedades de colágeno, histiocitosis y neumonitis intersticial (17).

SURFACTANTE PULMONAR

El surfactante pulmonar es un complejo producido y secretado por los neumocitos tipo dos que son células especializadas del epitelio alveolar, una vez secretado el surfactante, crea una película superficial en el epitelio, en contacto con el aire, de ahí cumple su principal función que consiste en auxiliar en la mecánica respiratoria mejorando el intercambio gaseoso durante la respiración estabilizando la superficie y reduciendo la tensión superficial, además se ha comprobado que forma parte de la defensa o inmunidad innata que constituyen la primera barrera a la entrada de microorganismos patógenos; es un complejo lipoproteico compuesto por fosfolípidos los cuales representan el 90% de la composición del surfactante, también está compuesto por lípidos principalmente colesterol, cabe resaltar la presencia de la dipalmitoilfosfatidilcolina que constituye más del 40% del surfactante (18).

Estas moléculas tienen una amplia especificidad de reconocimiento de patrones asociados a patógenos y actúan, no solo como opsoninas, induciendo de alguna manera la fagocitosis, ya que funcionan como un PRR (Receptor de reconocimiento de patrones) de secreción capaz de activar la liberación de citosinas proinflamatorias, sino que también tienen la capacidad de activar la cascada del complemento mediante la unión al fragmento C1q, de este modo poseen diferentes propiedades funcionales que también poseen los anticuerpos y se pueden unir a un gran número de microorganismos patógenos (29).

Otra parte importante son las proteínas específicas llamadas proteínas surfactante existen cuatro y se denominan SP-A, SP-B, SP-C y SP-D, (del inglés: surfactant protein A, B, C y D) las cuales tienen propiedades diferentes y están clasificadas en función de su estructura y

propiedades, la SP-A y la SP-D son hidrofílicas y de gran tamaño estas pertenecen a un grupo llamado colectinas ya que en su estructura tienen dominios con receptores para lectina con capacidad de reconocer y adherirse a cadenas de polisacáridos siempre y cuando exista presencia de calcio, se ha estudiado que la función principal de este grupo de proteínas es la de la inmunidad innata del pulmón, la SP-B y la SP-C son polipéptido de pequeño tamaño hidrofóbicas, lo que hace que sean solubles en disolventes orgánicos, esto les permite formar complejos con los lípidos y de esta forma son las que van a determinar las propiedades biofísicas del surfactante (19).

La SP-A y la SP-D intervienen en la inmunidad innata: activando la vía clásica del complemento (ayuda a la formación del complejo de ataque a la membrana), opsonización con la activación de fagocitos y macrófagos, regulan la expresión de antígenos.

ANTECEDENTES ESPECIFICOS

FISIOPATOLOGÍA DE DAÑO PULMONAR POR PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDOS

En el SAF, la oclusión vascular es consecuencia de trombosis en ausencia de vasculitis. Sin embargo, todavía no se conoce con exactitud la razón por la cual se produce la asociación entre el estado protrombótico del SAF y la presencia de autoanticuerpos antifosfolípidos que tienen un efecto anticoagulante *in vitro*, se han propuesto múltiples hipótesis, como la acción de los APL sobre las células endoteliales, los monocitos o las plaquetas, la alteración en la regulación del metabolismo de los eicosanoides en el endotelio vascular, el aumento de la expresión del factor tisular, el bloqueo de la acción de la beta 2 -glucoproteína I o la inhibición de los mecanismos anticoagulantes y de la fibrinólisis (20).

También se han propuesto otros mecanismos patogénicos que incluyen la inhibición de la liberación de prostaciclina por el endotelio, lo que en condiciones normales evita la agregación plaquetaria y mantiene equilibrio en lesiones vasculares; también se propone alteración en la vía de la proteína C-S responsables de mantener la fluidez de la sangre bajo diversas circunstancias procoagulantes, pero cuando estos estímulos superan por alguna alteración los mecanismos de control y regulación, favorecen la aparición de trombosis; de igual forma hay efecto procoagulante directo en las plaquetas y también un deterioro en el proceso de fibrinólisis; los APL parecen jugar un papel patogénico directamente relacionado con el SAF el cual es ampliamente aceptado como enfermedad mediada por autoanticuerpos, una gran variedad de mecanismos procoagulantes se enlistan en el cuadro 4 (21). En general se engloban en 2 los mecanismos fisiopatológicos: Primero los APL actúan *in vivo* rompiendo las reacciones

homeostáticas que ocurren en las membranas celulares y alteran la cinética de las reacciones pro y anticoagulantes bloqueando interacción de proteína con proteína y/o el acceso de otras proteínas a la membrana fosfolípida; segundo estimulan ciertas células que alteran la expresión y secreción de varias moléculas reguladoras de la homeostasis (21).

Cuadro 4. Posibles mecanismos de la trombosis mediada por autoanticuerpos en el SAF

Inhibición de reacciones anticoagulantes
Inhibición de la vía de la proteína C
Inhibición de la activación de la proteína C
Inhibición de la proteína C activada
Inhibición de actividad de la antitrombina
Desplazamiento de anexina A5
Inhibición de la actividad anticoagulante de B2 glicoproteína
Eventos celulares mediados
En monocitos
Expresión del factor tisular
Actividad endotelial celular procoagulante mejorada
Deterioro de fibrinólisis
Disregulación de eicosanoides
Producción disminuida de prostaciclina endotelial
Producción incrementada de Tromboxano A2
Mejora de la activación/ agregación plaquetaria

Fuente: Tomado de Sole 2006 (21)

En el SAF el objetivo principal para los APL es la B2 glicoproteína, proteína del plasma que se une fuertemente a la superficie del fosfolípido, motivo por el cual se aumenta la regulación de la expresión de moléculas de adhesión como E-selectina y factor tisular, además la unión del APL anti-B2 glicoproteína suprime la actividad del factor tisular lo que a su vez reduce la actividad de la proteína C y activa al complemento, también se ha visto que las plaquetas aumentan la expresión de B2 glicoproteína lo que aumenta las interacciones protrombóticas entre los APL y las células endoteliales; la activación de neutrófilos incluyendo la liberación de la trampa extracelular de neutrófilos (NETosis) y la interleucina 8, pueden ser elementos importantes de la trombosis asociada a APL, en suma a esto los monocitos y las micropartículas derivadas de monocitos de los pacientes con SAF expresan altos niveles de factor solar, el SAF microtrombótico puede ser explicado en parte por la mala regulación de los mecanismos inducidos por los APL que tienen como objetivo la rapamicina (mTOR) complejo localizado en las

células endoteliales que resulta en vasculopatías es ocasionadas por los APL, el complemento de la función endotelial y trofoblástica en parte explica las complicaciones del embarazo y las microtrombosis aunque la trombosis de la placenta y las interacciones de los APL con las células deciduales también contribuye a las complicaciones del embarazo (22).

PROTEINA SURFACTANTE D (SP-D) EN LES

Con respecto a la SP-D, Hoegh y cols. en el año 2015 midieron SP-D en suero usando la prueba de ELISA en 70 pacientes con LES y en 1476 sujetos sanos para investigar si la SP-D está asociada con indicadores de la enfermedad, y la posible asociación del polimorfismo Met11Thr con los niveles séricos, patrón de oligomerización y función de la SP-D, se reportó que la disminución de la SP-D, no está relacionada con los indicadores de la enfermedad, pero representa un aspecto de la etiopatogenia del LES, y no hay relación con el polimorfismo (23)

PROTEINA SURFACTANTE D (SP-D) EN ENFERMEDADES AUTOINMUNES

En otro estudio, Wang y cols., en el año 2017 hicieron un metaanálisis y una revisión sistemática de 21 artículos para evaluar el uso de la proteína surfactante D para el diagnóstico diferencial y el pronóstico de la fibrosis pulmonar idiopática (FPI), los niveles séricos de SP-D fueron significativamente más altos en pacientes con FPI que en pacientes con infecciones pulmonares y sujetos sanos; los niveles de SP-D elevados, aumentaron el riesgo de la enfermedad 11%, y la exacerbación de la enfermedad de la FPI aumentó cuando los niveles de SP-D fueron altos; se concluyó que los niveles séricos de SP-D pueden ser útiles para diagnóstico diferencial y la supervivencia en pacientes con FPI (25). Nakae y cols, en 2003 establecieron que la concentración sérica normal de SP-D fue 476.31 ± 391.2 ng/ml, esto al compararlo en grupos de pacientes con daño pulmonar por síndrome de distrés respiratorio agudo, y pacientes sanos (24).

SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO Y LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

En un estudio realizado por Taraborelli y cols., en el año 2016, se investigó el rol clínico del síndrome antifosfolípido en una cohorte de 317 pacientes, 95% mujeres y 96% caucásicas, diagnosticados con LES bajo los criterios del Colegio Americano de Reumatología, se hizo seguimiento a los pacientes por 5 años a los cuales se les hizo perfil de anticuerpos antifosfolípidos al inicio del estudio, se midió la actividad del LES con el índice de SLEDAI y los anticuerpos antifosfolípidos, los cuales se definieron como clínicamente significativos con prueba positiva de anticuerpos lúpicos, anticuerpos IgG e IgM positivos en 2 o más ocasiones con 12

semanas de separación, en los resultados se mostró que 117 pacientes (37%) mostraron anticuerpos antifosfolípidos clínicamente significativos y un aumento en la prevalencia de trombosis venosa profunda, embolismo pulmonar, enfermedad valvular cardiaca y en especial SAP; un tercio de los pacientes se asociaron con los anticuerpos antifosfolípidos y el SAF (26).

En otro estudio de Ruiz Irastroza y cols. del 2014, hicieron un seguimiento de 15 años de una cohorte de 202 pacientes con LES diagnosticado por al menos 4 criterios de acuerdo al Colegio Americano de Reumatología y con síndrome antifosfolípido diagnosticado por criterios de Sapporo, y midieron daño irreversible a órganos medido con el índice SDI, y observaron que los pacientes con síndrome antifosfolípido asociado a LES presentaron manifestaciones de trombosis, identificaron al SAF como factor predictor de daño irreversible a órganos (8).

Complicaciones pulmonares como la imagen en vidrio esmerilado, neumonitis, hemorragia pulmonar, bronquiolitis *obliterans*, atelectasia, enfermedad vascular pulmonar, hipertensión pulmonar, embolismo pulmonar, se encuentran presentes al estar asociados LES y SAF (27) (cuadro 5).

Cuadro 5. Manifestaciones pulmonares más frecuentes en LES, SAF y la asociación de ambas

LES	SAF	LES + SAF
Hemorragia pulmonar	Tromboembolismo pulmonar	Neumonitis
Fibrosis pulmonar	Hipertensión pulmonar tromboembólica	Hemorragia pulmonar
Disfunción del diafragma	Hipertensión pulmonar no tromboembólica	Bronquiolitis obliterans
Edema pulmonar	Síndrome de insuficiencia respiratoria aguda	Atelectasia
Síndrome del pulmón pequeño	Hemorragia alveolar	Enfermedad vascular pulmonar
		Hipertensión pulmonar
		Embolismo pulmonar

LES: lupus eritematoso sistémico; SAF: síndrome antifosfolípido

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los anticuerpos antifosfolípidos están presentes en aproximadamente el 40% de los pacientes con lupus y esto aumenta el riesgo de presentar SAF, daño a los diferentes órganos y también la mortalidad.

Las manifestaciones pulmonares son hallazgos frecuentes (más de la mitad de los casos) en pacientes con lupus con y sin anticuerpos antifosfolípidos y con síndrome antifosfolípido que superando en frecuencia a otras enfermedades del tejido conectivo.

Dentro de las complicaciones pulmonares del síndrome antifosfolípido se encuentran el tromboembolismo pulmonar, hipertensión pulmonar, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda y hemorragia alveolar. Todas éstas se pueden confirmar con estudios de imagen como la Tomografía Axial Computarizada, en la cual diversos estudios muestran la relación de la densidad del parénquima pulmonar y su alteración secundaria a complicaciones pulmonares por enfermedades autoinmunes.

Sin embargo, no se ha establecido si la presencia de anticuerpos antifosfolípidos aumenta la concentración de marcadores de daño pulmonar como la SP-D que pudieran favorecer una neumopatía intersticial y tampoco se encuentran suficientes datos clínicos para evaluar la progresión de la patología pulmonar relacionada a la presencia de anticuerpos antifosfolípidos.

Lo que nos llevó a la pregunta de investigación: ¿Los pacientes con lupus eritematoso sistémico y anticuerpos antifosfolípidos tienen concentraciones séricas de SP-D diferentes de aquellos pacientes que solamente tienen lupus eritematoso sistémico?

JUSTIFICACIÓN

Los anticuerpos antifosfolípidos están presentes en más del 40% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico, la asociación de los dos aumenta tanto la morbilidad como la mortalidad de los pacientes, la afección del pulmón es una de las principales causas de mortalidad, se han descrito patrones en la tomografía de alta resolución de estas afecciones en pacientes con lupus pero no hay estudios en pacientes con presencia de anticuerpos antifosfolípidos que demuestren el grado de afección para mediar conductas terapéuticas. Por otro lado, se ha visto que la proteína surfactante D juega un papel importante en diferentes procesos de inflamación, reparación y fibrosis en el pulmón. Al poder comprobar la participación de la proteína surfactante D, estos podrían ser considerados como biomarcadores importantes de daño a nivel pulmonar en pacientes con presencia de anticuerpos antifosfolípidos y lupus eritematoso sistémico, ayudando al diagnóstico oportuno y la reducción de la mortalidad por este tipo de afecciones.

HIPÓTESIS

Los pacientes con lupus eritematoso sistémico y anticuerpos antifosfolípidos tienen concentraciones séricas mayores de SP-D que aquellos pacientes que solamente tienen lupus eritematoso sistémico.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Comparar las concentraciones de SP-D en pacientes con lupus eritematoso sistémico con y sin la presencia de anticuerpos antifosfolípidos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivo específico 1: Determinación de anticuerpos antifosfolípidos en pacientes con LES

Objetivo específico 2: Medir los niveles séricos de SP-D en pacientes con LES, con y sin APL

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio comparativo, observacional, transversal, prolectivo y homodémico en el laboratorio de Medicina Experimental de la Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y en la Unidad Médica de Alta Especialidad Manuel Ávila Camacho (UMAE) del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en el periodo de Julio 2017 a Julio 2019.

Se registró el protocolo ante el comité de investigación de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, obteniendo el número de registro 559 (anexo 5). Todos los pacientes que participaron en el estudio, firmaron la hoja de consentimiento informado siguiendo las normas éticas (anexo 1).

Se realizó muestreo tipo probabilístico; tomando en cuenta estudios previos con otras patologías, se observó que los niveles de SP-D en los controles fue de aproximadamente 83 con una desviación estándar de 34 (24), nosotros consideramos una diferencia clínicamente significativa de al menos un 30% sobre los controles, estimando una potencia de 80%, con una probabilidad de cometer el error tipo I de 0.05, se requirieron 32 pacientes por grupo para una prueba de dos colas. Para la población elegible, se tomaron como criterios de inclusión para el grupo con APL: pacientes mayores de 18 años y menores de 65 diagnosticados con LES , pacientes que aceptaron participar de manera voluntaria en el estudio y que tuvieron antecedente de anticuerpos antifosfolípidos positivos o de trombosis, y para el grupo control los mismos que los anteriores, con la diferencia de que el antecedente de los anticuerpos antifosfolípidos fuera negativos y no tuvieran antecedentes de trombosis , se excluyeron a pacientes embarazadas, pacientes con historia reciente de hemorragia pulmonar, pacientes con infecciones pulmonares o broncopulmonares, asmáticos o con SAF catastrófico, y se eliminaron a los pacientes que no acudieron a toma de muestra sanguínea y a los pacientes que no tuvieran medición de SP-D. Se tuvieron como variables de estudio SP-D, anticuerpos antifosfolípidos, edad, peso, talla, IMC, tabaquismo, alcoholismo, grado de actividad del LES, daño del LES, tiempo de evolución, manifestación del SAF y tratamiento (anexo 6).

De la base de datos de una cohorte de lupus de 412 pacientes, se identificaron a 33 pacientes sin antecedente de anticuerpos antifosfolípidos positivos, una fue eliminada debido a que por acceso venoso difícil, al final se obtuvieron 28 pacientes negativos sin antecedente de APL positivos, y 4 pacientes perdidos que no acudieron a toma de muestra sanguínea. También se identificaron a 38 pacientes que tenían antecedente de APL positivos, se excluyeron a 2 por presentar únicamente SAF, 3 no aceptaron participar o y una fue eliminada por no acudir a toma

de muestra, se obtuvieron 11 pacientes positivos, 16 negativos y 5 perdidos que no acudieron a la medición

Se identificaron a los pacientes diagnosticados con LES de la consulta externa de Reumatología de la UMAE del IMSS, se les explicó en qué consistió el estudio y a los que aceptaron se les dio hoja de consentimiento informado el cual firmaron siguiendo las normas éticas (anexo 1). Se tomaron datos generales y de la enfermedad (anexos 2,3 y 4), se realizó toma de muestra sanguínea venosa periférica por técnica convencional, después los sueros se congelaron a -20°C para medir posteriormente las concentraciones de SP-D, se refirió a los pacientes a los laboratorios de Ruiz de Puebla para la medición de APL, con los sueros congelados se realizó prueba de ELISA para medición de la concentración SP-D, y finalmente se relacionó la presencia de anticuerpos antifosfolípidos con las concentraciones de SP-D en sangre.

METODOLOGÍA PARA CADA OBJETIVO ESPECÍFICO

PARA OBJETIVO ESPECÍFICO 1

Se tomó muestra sanguínea a los pacientes en fecha y hora programadas, sin ninguna indicación especial, utilizando la técnica convencional para acceso venoso periférico por personal capacitado para su posterior proceso en los laboratorios Ruiz de Puebla.

El anticoagulante lúpico se diagnostica en el laboratorio a través de diversas pruebas de coagulación, la sangre se debe recolectar en tubos plásticos que contengan citrato de sodio 0,11M en proporción de 1 parte de anticoagulante por cada 9 de sangre, se asocian a una tendencia trombótica, por lo que se produce alargamiento de la TTPa, o el tiempo de protrombina. Para diagnosticar un paciente con AL deben cumplirse los siguientes criterios: prolongación de al menos una prueba de coagulación que necesite fosfolípidos, confirmación de que la alteración se debe a un inhibidor y no a un defecto de factores, evidencia de que la actividad inhibitoria depende de los fosfolípidos y evidencia de que el inhibidor no va dirigido contra factores de coagulación. Se determina por dos test: Test de Exner, que mide el tiempo de coagulación de un plasma mezclado en diferentes proporciones con un plasma control, con caolín y cloruro cálcico. Es sensible a heparina y a los inhibidores específicos contra factores de coagulación. Al ser positivo descartaremos los inhibidores específicos contra factores de coagulación, y el Test de Russell, se coagula un plasma con veneno de la serpiente de Russell, que activa el factor X en presencia de pequeñas cantidades de fosfolípidos. También es sensible a la heparina.

Para anticardiolipina la mayoría de los métodos usados en los laboratorios son ELISAs utilizando como antígeno la cardiolipina o la fosfatidilserina, pero nuevas tecnologías están actualmente disponibles con la ventaja de la automatización, existen varios ensayos automatizados entre ellos ensayos totalmente automatizados Fluoroenzyme immunoassay y Chemiluminescent immunoassay para la detección individual de aCL y ab2GPI (IgG e IgM). Además, un ensayo que utiliza microesferas recubiertas con diferentes antígenos que permite la detección simultánea de aCL y ab2GPI (IgG, IgM e IgA). Este último es totalmente automatizado (Multiplex immunoassays BioPlex 2200) y brinda los resultados en 30 minutos.

PARA OBJETIVO ESPECÍFICO 2

Se tomó muestra sanguínea tomada por acceso venoso periférico de la misma forma que para el objetivo específico 1, se midió SP-D con el Human SP-D ELISA kit en cultivos celulares sobrenadantes, suero y plasma de Raybiotech, el kit contiene un estándar que es SP-D recombinante expresada en células NS0. La base de ambas técnicas es un ELISA tipo sándwich de doble anticuerpo. El anticuerpo inmovilizado es un anticuerpo monoclonal SP-D humano y el anticuerpo de detección es un anticuerpo policlonal marcado con biotina. Las muestras y el anticuerpo marcado con biotina se agregan a los pocillos de la placa ELISA y se lavan con amortiguador PBS o TBS. Luego, se agrega un conjugado de estreptavidina con peroxidasa de rábano a los pocillos de ELISA en orden y se vuelven a lavar los pozos; posteriormente, se añade el sustrato de la peroxidasa 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB), el cual al reaccionar con la peroxidasa desarrolla un color azul. Finalmente, se para la reacción con ácido y el color vira a amarillo. La intensidad del color se mide a 450 nm. Se grafican los logaritmos de la absorbancia y la concentración del estándar y los valores problema se interpolan.

Los gradientes de concentración de los estándares del kit o los controles positivos representan un rango teórico de detección de kit en muestras de investigación biológica que contienen SP-D. Los tipos de muestra fueron sueros congelados de los pacientes.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se realizó un tipo de muestreo probabilístico, en estudios previos con otras patologías, se ha observado que los niveles de SP-D en los controles son de aproximadamente 83 con una desviación estándar de 34 (24). Nosotros consideramos que una diferencia clínicamente significativa sería de al menos un 20% sobre los controles. Estimando una potencia de 80%, con una probabilidad de cometer el error tipo I de 0.05, se requieren 64 pacientes por grupo para una prueba de dos colas. Para el cálculo se empleó el programa SamplePower versión 3 (SPSS inc.).

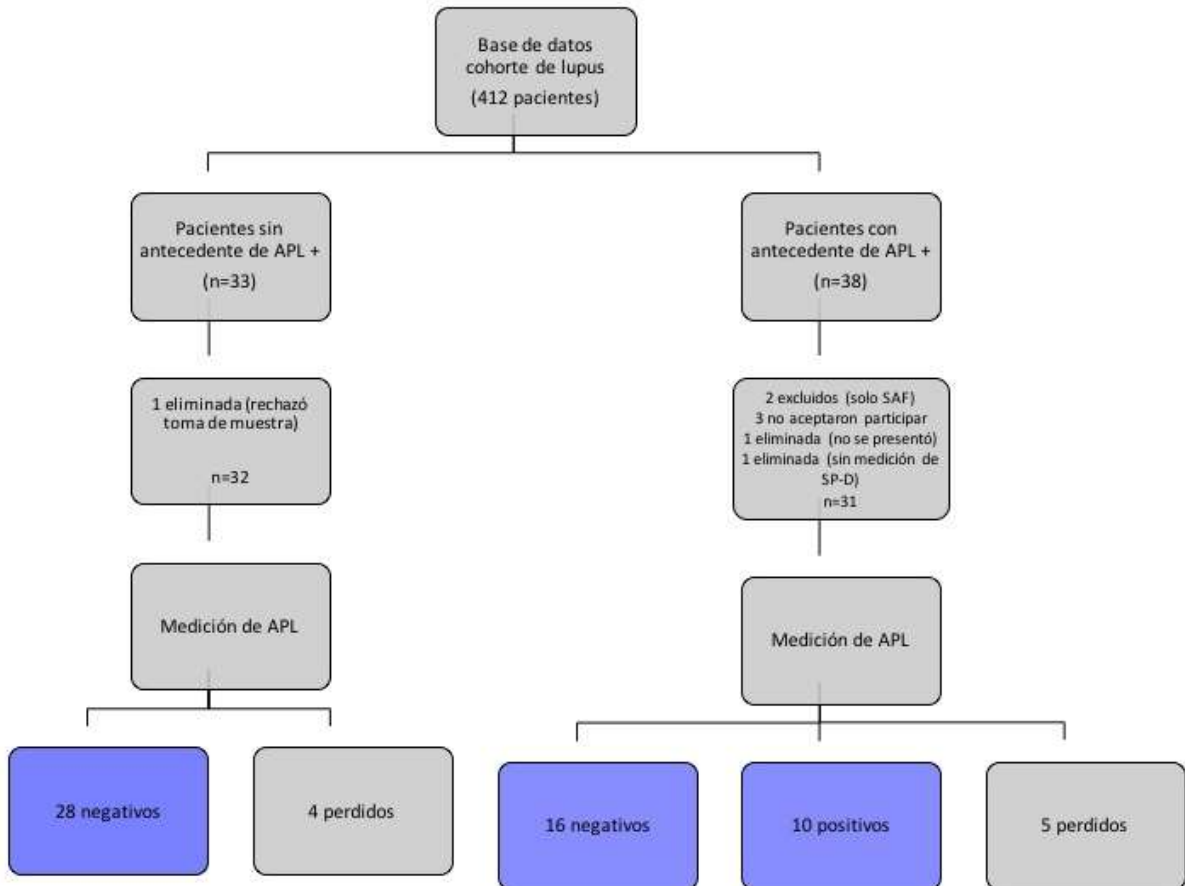
ANALISIS ESTADISTICO

A no ser que se especifique otra cosa, las variables cuantitativas se reportan como promedio \pm desviación estándar. Se realizó una prueba de Kruskal Wallis para hacer la comparación entre grupos de las concentraciones de SP-D, y un modelo lineal generalizado para ver la influencia de otras variables en la concentración de SP-D. Se usó paquete estadístico SPSS versión 20, y se usó una $p < 0.05$ para considerar la significancia estadística.

RESULTADOS

ANÁLISIS DE LA MUESTRA

De la base de datos de una cohorte de lupus de 412 pacientes, se identificaron a 33 pacientes sin antecedente de anticuerpos antifosfolípidos positivos, de estos pacientes una fue eliminada debido a que por acceso venoso difícil no se pudo tomar la muestra sanguínea, a los 32 pacientes restantes se les midió la presencia de anticuerpos antifosfolípidos, al final se obtuvieron 28 pacientes negativos sin antecedente de APL positivos, y 4 pacientes perdidos que no acudieron a toma de muestra sanguínea. También se identificaron a 38 pacientes que tenían antecedente de APL positivos, de los cuales se excluyeron a 2 por presentar únicamente SAF sin LES, 3 no aceptaron participar en el estudio y una paciente fue eliminada por no acudir a toma de muestra sanguínea, a estos pacientes se les midió también presencia de APL, de lo cual se



obtuvieron 11 pacientes positivos, 16 negativos y 5 perdidos que no acudieron a la medición (fig.1).

Con estos resultados, se conformaron 2 grupos: el grupo 1 (n = 28) son los pacientes con LES sin antecedentes de SAF, en todos ellos, los APL resultaron negativos; el grupo 2 (n = 26) se formó con pacientes con LES, con diagnóstico de SAF. De ellos, 10 pacientes resultaron con APL positivos en la medición actual.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES DEMOGRÁFICAS TOTAL Y POR GRUPOS.

En la tabla 1 se muestran las variables demográficas de la muestra empleada. Podemos observar que 51 pacientes de la muestra total fueron mujeres, esto representa el 94.4% de la muestra, el promedio de edad fue de 43 años, teniendo una edad máxima de 73 y una edad mínima de 19.

En la tabla 2 se muestran las variables demográficas distribuidas por grupos. Se pudo observar que en los 2 grupos más del 90% fueron mujeres; la edad promedio fue alrededor de los 40 años; el promedio del IMC para ambos grupos fue mayor de 25. De acuerdo a lo establecido por la OMS, 18 pacientes (33.3%) tienen sobrepeso ($IMC \geq 25$), mientras que 20 pacientes (37%) tienen obesidad ($IMC \geq 30$). Al realizar una diferencia de medias, se observó que la talla fue la única variable que mostró una diferencia significativa entre ambos grupos ($p < 0.05$).

ANÁLISIS DE LAS VARIABLES RELACIONADAS CON EL LES EN TODA LA POBLACIÓN Y POR GRUPOS

Las características relacionadas con LES se describen en la tabla 3. La edad promedio al inicio de las manifestaciones fue de 28 años, similar a la edad en el momento del diagnóstico. El tiempo de evolución fue en promedio de 14 años; 11 (20.4%) pacientes tuvieron actividad de la enfermedad, principalmente articular y 8 (14.9) daño a órgano, siendo el riñón el único órgano afectado; 25 (46.3%) pacientes de toda la muestra usan inmunosupresores dentro de su esquema de tratamiento y 42 (77.8%) usan corticosteroides.

En la tabla 4, se describen las variables relacionadas al LES en los 2 grupos de estudio. La edad de manifestaciones y la edad al diagnóstico son semejantes, alrededor de los 28 años; el tiempo de evolución en el grupo 1 fue en promedio de 13 años, similar al grupo 2 en donde fue de 14 años. En cuanto a la actividad de la enfermedad, 14 (50%) pacientes del grupo uno y 8 (30.8%) pacientes del grupo 2 la presentaron, articular principalmente. Se observó que 2 (7.1%) pacientes del grupo 1, y 6 (23.1%) pacientes del grupo 2 tenían daño a órgano. Por último, la cifra de pacientes con antecedentes cardiovasculares fue de 15 (53.6%) en el grupo 1, y 13 (50%) en el grupo 2. Al hacer una comparación de la presencia de síntomas respiratorios en

ambos grupos, vemos que en el grupo 1 hubo 13 (46.4%) pacientes mientras que en el grupo 2 hubo 24 (92.3%). Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p = 0.00$).

Tabla 1. Variables demográficas de los pacientes de la muestra (n=54)

Variable		
Género	Mujeres	51 (94.4%)
	Hombres	3 (5.6%)
	Promedio \pm DE (mínimo-máximo)	IC _{95%}
Edad (años)	43 \pm 12 (19 – 73)	39.7 – 46.5
Peso (kg)	69.3 \pm 11.6 (43.8 – 101.4)	66.1 – 72.5
Talla (cm)	155.7 \pm 8.3 (120 – 171)	153.4 – 157.9
PAS	113.9 \pm 20.8 (100 – 230)	105.4 – 119.1
PAD	70.6 \pm 8.1 (60 – 90)	68.3 – 72.8
IMC	28.9 \pm 6.9 (17.9 – 65.6)	27.1 – 30.9

DE (desviación estándar), PAS (presión arterial sistólica), PAD (presión arterial diastólica), IMC (índice de masa corporal)

Tabla 2. Variables descriptivas de pacientes de los 2 grupos. (n=54)

	GRUPO 1	GRUPO 2	
Género			
Mujeres	27 (96.4%)	24(92.3%)	
Hombres	1 (3.6%)	2 (7.7%)	
	Promedio \pm DE (mínimo y máximo)	Promedio \pm DE (mínimo y máximo)	<i>p</i>
Edad (años)	42 \pm 11 (19 – 60)	44 \pm 13 (21 – 73)	NS
Peso (kg)	69.8 \pm 10.3 (43.8 – 94.5)	68.8 \pm 13.1 (49 – 101.4)	NS
Talla (cm)	153 \pm 8 (120 – 167)	158 \pm 7 (143 – 171)	0.035
PAS	107.9 \pm 9.9 (100 – 130)	116.9 \pm 34.4 (100 – 230)	NS
PAD	71.6 \pm 7.2 (60 – 90)	69.4 \pm 8.9 (60 – 90)	NS
IMC	30.3 \pm 8.3 (17.9 – 65.6)	27.5 \pm 4.9 (20.66 – 41.7)	NS

DE (desviación estándar), PAS (presión arterial sistólica), PAD (presión arterial diastólica), IMC (índice de masa corporal), NS (no significativo); GRUPO 1: LES sin SAF; GRUPO 2 LES con SAF

Tabla 3. Variables relacionadas al LES de pacientes de toda la muestra (n=54)

Variable	Promedio \pm DE (mínimos y máximos)	IC _{95%}
Edad de manifestaciones (años)	28 \pm 9 (10 – 59)	25 - 31
Edad al diagnóstico (años)	29 \pm 9 (12 – 59)	26 - 32
Tiempo de evolución (años)	14 \pm 7 (1 – 33)	12 - 15
Cantidad		
DM	9 (16.7%)	
HAS	19 (35.2%)	
Actividad de la enfermedad	11 (20.4%)	
Daño a órgano (riñón)	8 (14.9%)	
Uso de inmunosupresores	25 (46.3%)	
Uso de corticosteroides	42 (77.8%)	
Antecedente cardiovascular	28 (51.9%)	
Tabaquismo activo	4 (7.4%)	
Alcoholismo	10 (18.5%)	

DE (desviación estándar), DM (diabetes mellitus), HAS (hipertensión arterial)

Tabla 4. Variables relacionadas al LES en los 2 grupos (n=54)

	GRUPO 1	GRUPO 2	<i>p</i>
Variable			
	Promedio ± DE (mínimos y máximos)	Promedio ± DE (mínimos y máximos)	
Edad de manifestaciones(años)	28 ± 8 (16 – 47)	28 ± 11 (10 – 59)	NS
Edad al diagnóstico (años)	28 ± 8 (16 – 47)	29 ± 11 (12 – 59)	NS
Tiempo de evolución (años)	13 ± 7 (1 – 32)	14 ± 7 (6 – 33)	NS
Actividad física (hrs/semana)	1.5 ± 2.5 (0-7)	2.4 ± 3 (0-9)	NS
	n (porcentaje)	n (porcentaje)	P
DM	3 (10.7%)	6 (23.1%)	NS
HAS	10 (35.7%)	9 (34.6%)	NS
Actividad de la enfermedad	14 (50%)	8 (30.8%)	NS
Daño a órgano (riñón)	2 (7.1%)	6 (23.1%)	NS
Uso de inmunosupresores	16 (57.1%)	9 (34.6%)	NS
Uso de corticosteroides	20 (71.4%)	22 (84.6%)	NS
Antecedente cardiovascular	15 (53.6%)	13 (50%)	NS
Tabaquismo activo	3 (10.7%)	6 (23.1%)	NS
Alcoholismo	7 (25%)	3 (11.5%)	NS
Presencia de síntomas respiratorios	13 (46.4%)	24 (92.3%)	< 0.001

DE (desviación estándar), DM (diabetes mellitus), HAS (hipertensión arterial), NS (no significativo); GRUPO 1: LES sin SAF; GRUPO 2 LES con SAF.

PRIMERAS MANIFESTACIONES DEL SAF.

En la tabla 5, se muestran las primeras manifestaciones que los pacientes con la medición actual de APL positivo tuvieron como criterio clínico, son las formas de trombosis que los pacientes presentaron, se puede observar que la trombosis venosa profunda y las combinaciones de trombosis simultáneas fueron las formas de trombosis más común.

Tabla 5. Primera manifestación clínica de los pacientes con SAF (n=10)

Manifestación	Cantidad
TVP	10 (32.3%)
TEP	6 (19.4%)
EVC	3 (9.7%)
ABORTO	2 (6.5%)
OCULAR	2 (6.5%)
COMBINACIONES	8 (25.8%)

TVP: trombosis venosa profunda; TEP: tromboembolismo pulmonar; EVC: evento vascular cerebral

EFFECTO DE LA PRESENCIA DE SAF SOBRE LOS NIVELES DE SP-D

Cuando se analizaron los niveles de SP-D de acuerdo con la presencia o no de SAF, no se observó una diferencia significativa ($P < 0.05$). La mediana de SP-D en el grupo de LES sin SAF fue de 1ng/ml (rango intercuartílico de 5.7) mientras que en el grupo de LES con SAF la mediana fue de 1.8 ng/ml (rango intercuartílico de 20.6) (Figura 2). Sin embargo, cuando analizamos el histograma de los niveles de SP-D, se observa claramente que se pueden discriminar pacientes con SP-D por arriba de 12.5 ng/ml (Figura 3). Así pues, los pacientes fueron clasificados con SP-D alta, cuando tuvieron niveles por arriba del valor mencionado. Cuando hacemos la comparación de este modo, en el grupo de LES sin SAF, solo 2 de los 28 pacientes (7.1%) tuvieron SP-D alta, mientras que en los pacientes con SAF, 9 de los 26 pacientes (34.6%) presentaron SP-D alta. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($\chi^2 = 4.7$, $p = 0.03$), (Figura 4).

Esta diferencia se hace más clara, cuando distribuimos a los pacientes de acuerdo con la positividad actual de los APL (Figura 5). El grupo de pacientes con LES sin SAF tuvo una

mediana de 1 ng/ml (rango intercuartílico de 5.7), los niveles de SP-D en este grupo fueron de 4.6 ± 7.9 ng/ml; en el grupo de pacientes con LES y SAF con APL negativos, la mediana fue de 1.2 ng/ml (rango intercuartílico de 1.8) y los niveles de SP-D de 3.4 ± 6 ng/ml; en contraste, en los pacientes con lupus y SAF, la mediana de los niveles de SP-D fue de 23.3 ng/ml (rango intercuartílico de 32.8) y los niveles de SP-D fueron de 20.8 ± 14.7 ng/ml. La comparación entre grupos se hizo con la prueba de Kruskal-Wallis (comparación por pares con la prueba de Tukey-Kramer-Nemenyi, con aproximación de la distribución de Tukey). Los pacientes con APL positivos, mostraron una diferencia significativa cuando se compararon con los otros grupos ($p < 0.001$ entre SAF con APL positivos y LES, $p = 0.01$ entre SAF con APL positivos y SAF con APL negativos actualmente).

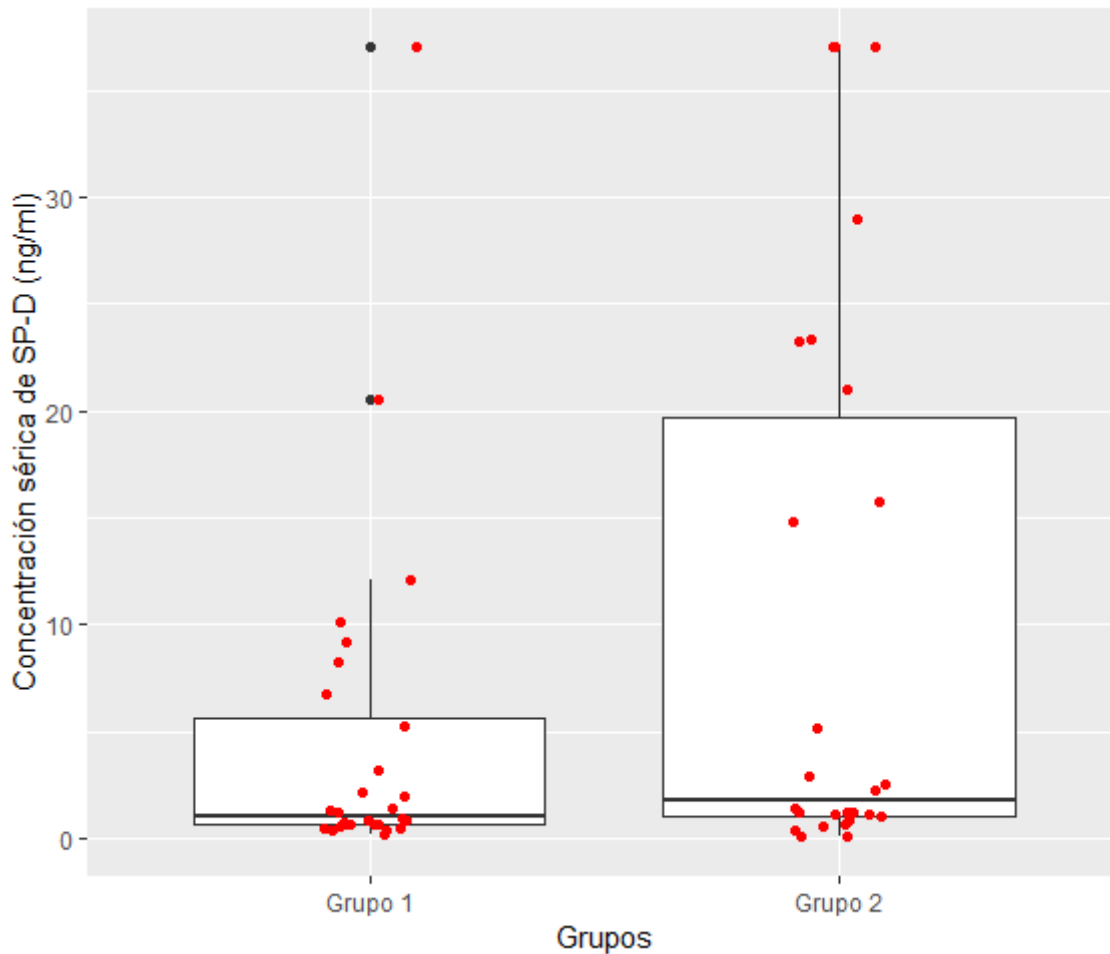


Figura 2. Comparación de los niveles de SP-D en grupos de acuerdo con la presencia de SAF; grupo 1: LES sin SAF, grupo 2: LES con SAF

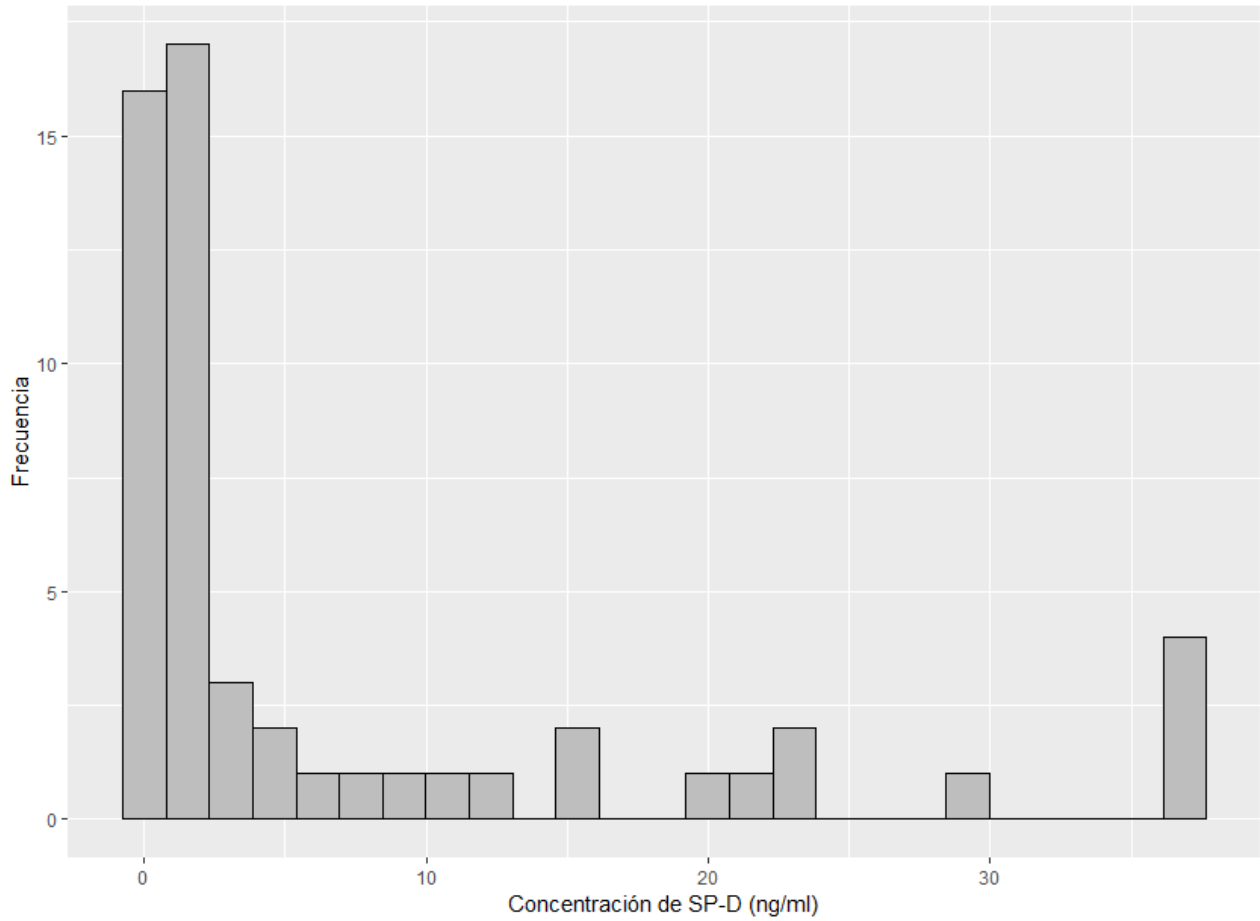


Figura 3. Histograma de los niveles de SP-D en la población de estudio.

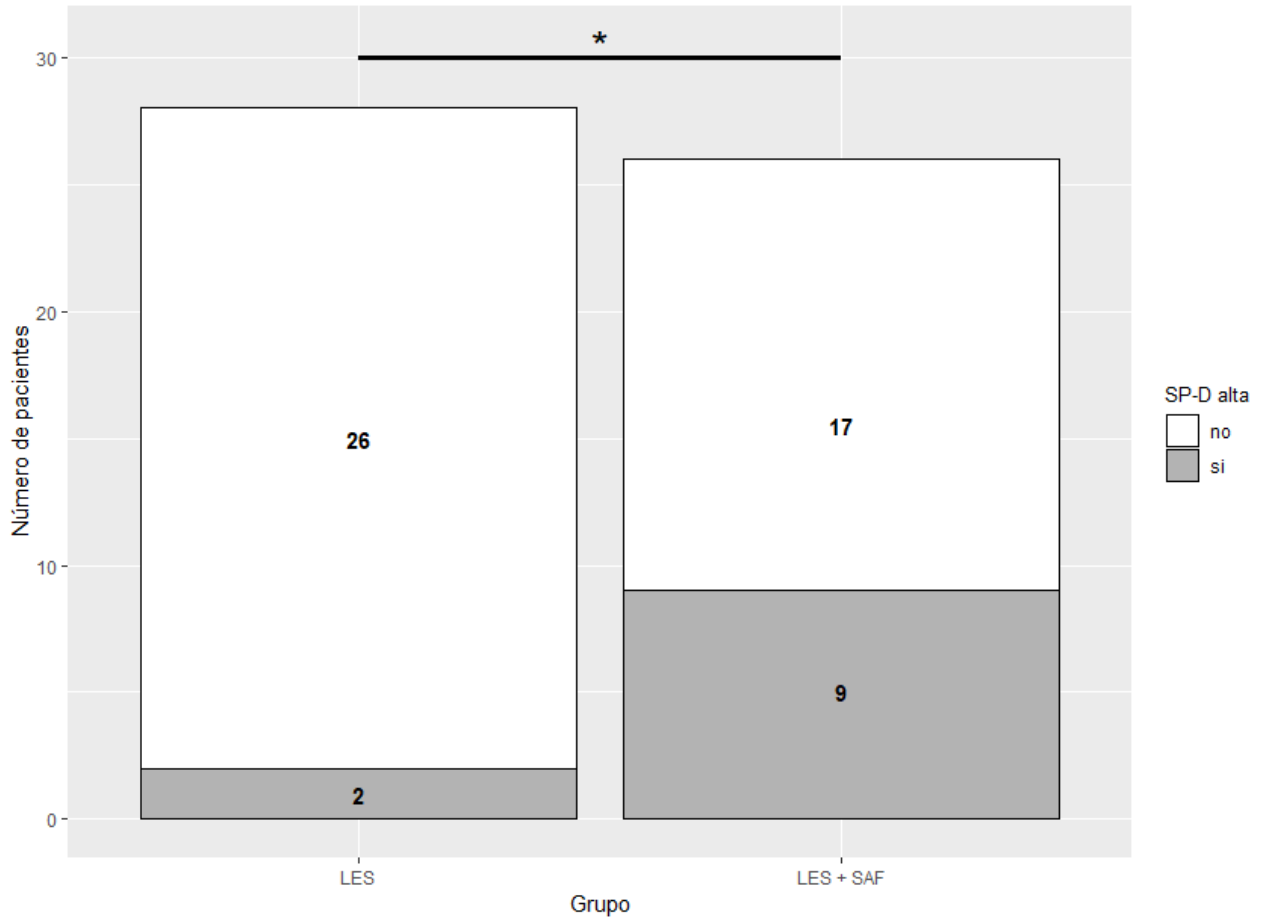


Figura 4. Pacientes con SP-D alta en grupo LES sin SAF y grupo LES con SAF. El asterisco indica una $p < 0.05$ (χ^2).

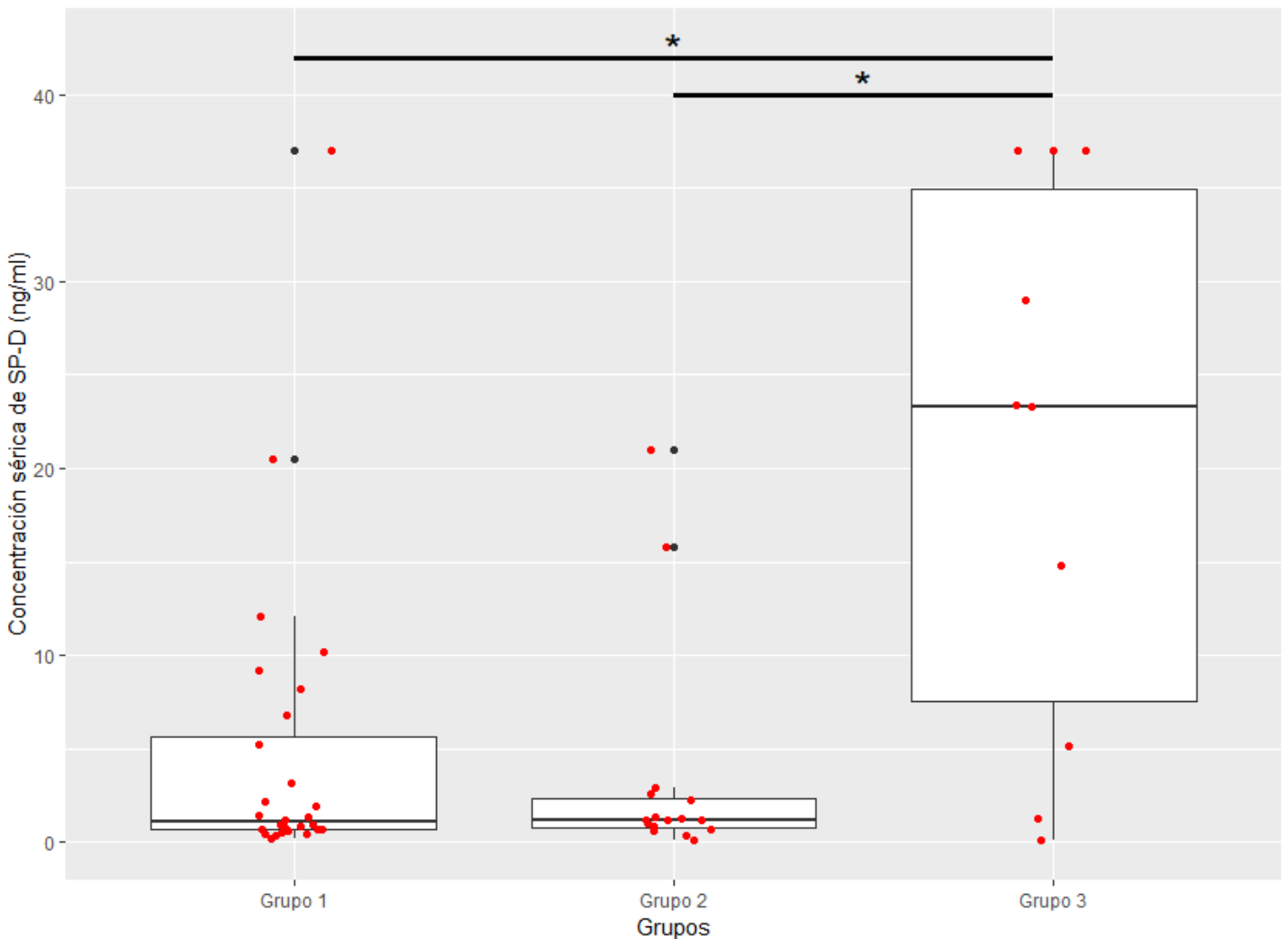


Figura 5. Concentración de SP-D de acuerdo a la medición actual de APL; grupo 1: LES sin antecedente de SAF; grupo 2: LES con antecedente de SAF con APL (-); grupo 3: LES con SAF.

AJUSTE PARA OTRAS VARIABLES

Se realizó un modelo de lineal generalizado (ver tabla 6) de la concentración sérica de SP-D, con las variables tiempo de evolución, actividad de la enfermedad, tabaquismo previo y actual en el grupo de pacientes con LES con antecedente de SAF pero APL negativo y el grupo de pacientes con LES y SAF, encontrando que únicamente hay efecto de la presencia de SAF sobre las concentraciones de SP-D.

Tabla 6. Ajuste de la concentración de SP-D con otras variables de interés.

Variable	Estimador	Error estándar	Valor de T	P
Grupo 2	-0.72218	2.95209	-0.245	0.8078
Grupo 3	15.48635	3.48729	4.441	5.41 x 10 ⁻⁵ ***
Tiempo de evolución	-0.20570	0.18967	-1.085	0.2837
Actividad de la enfermedad	0.01666	1.57423	0.011	0.9916
Tabaquismo previo	2.83880	4.55847	0.623	0.5365
Tabaquismo actual	-7.31330	4.87644	-1.500	0.1404

*** P significativa <0.001. GRUPO 2: LES con antecedente de SAF con APL (-); GRUPO 3: LES con SAF.

FRECUENCIA DE SÍNTOMAS RESPIRATORIOS EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

En la figura 3 se muestra el número de pacientes que presentaron síntomas respiratorios de acuerdo con cada grupo de estudio, se puede observar que en el grupo de pacientes con LES sin antecedente de SAF, el número de pacientes con síntomas es similar al número de pacientes sin síntomas, mientras que en el grupo con antecedente de SAF es mucho mayor el número de pacientes con síntomas respiratorios (alrededor del 90%).

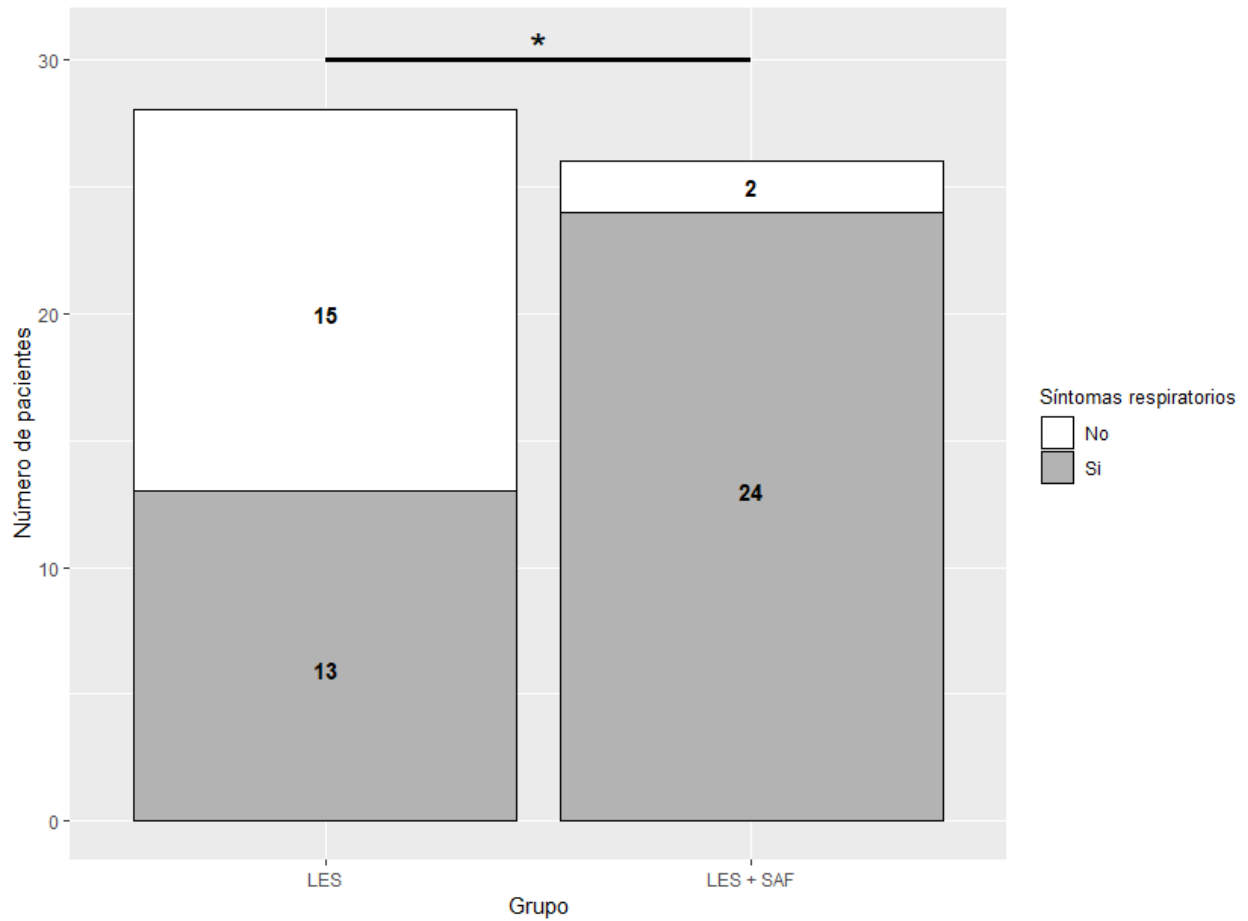


Figura 6. Presencia de síntomas respiratorios en cada grupo de estudio; grupo 1: LES sin antecedente de SAF; grupo 2: LES con antecedente de SAF.

DISCUSIÓN

Las complicaciones pulmonares en enfermedades autoinmunes son muy frecuentes, en el LES el pulmón se afecta del 50-100%, esta afección se da como en otras enfermedades autoinmunes en forma de neumopatías intersticiales difusas, las cuales afectan el intersticio pulmonar. Dentro del cuadro clínico está la aparición de numerosos síntomas respiratorios como disnea y tos, que aumentan la sospecha de un daño pulmonar, la técnica más útil en el diagnóstico de las NID es la tomografía axial computarizada de alta resolución de tórax. (16)

Afzal y cols. (28) efectuaron un estudio comparativo en donde vieron que las complicaciones pulmonares aumentan en pacientes que tienen la asociación de LES más SAF; con nuestro estudio se observó que efectivamente los pacientes con LES y SAF mostraron más síntomas respiratorios, esto no quiere decir que tengan el daño pulmonar, pero sería conveniente contar con biomarcadores que nos puedan predecir el riesgo que tienen los pacientes de desarrollar NID.

LA SP-D es un componente del surfactante pulmonar que participa en la inmunidad innata del pulmón. La importancia de este biomarcador radica en su potencial para predecir el daño pulmonar en una variedad de patologías respiratorias (25). Específicamente en enfermedades autoinmunes, Doyle y cols. (29) efectuaron un estudio en artritis reumatoide, donde observaron que las concentraciones altas de SP-D están relacionadas con la presencia de neumopatía intersticial difusa corroborada por TAC, tanto clínica como subclínica, en pacientes con artritis reumatoide. Otro estudio en pacientes con esclerosis sistémica reportó que la SP-D fue significativamente más alta en pacientes con neumopatía intersticial difusa añadida, que en aquellos pacientes que sólo presentaron esclerosis sistémica; también describen los patrones encontrados en la TAC (30).

La ausencia de anticuerpos antifosfolípido en pacientes con antecedentes clínicos de trombosis que en el pasado tuvieron APL positivos, se denomina "síndrome antifosfolípido seronegativo" (31). Esto se puede dar por tres situaciones: la primera que se trate de alguna otra coagulopatía que se esté dejando de lado como diagnóstico diferencial, para lo cual es necesario hacer otra evaluación de los pacientes que salieron con APL negativo; la segunda haya ocurrido algún error del laboratorio en el que se llevó a cabo la medición de los APL, esto explicado porque generalmente se hacen las pruebas para anticoagulante lúpico o anticardiolipina, pero existen otras pruebas que a veces se pasan por alto, ya que los anticuerpos pueden dirigirse a otros fosfolípidos como la fosfatidiletanolamina o a otros componentes de la vía de la proteína C o anexina V; la tercera situación es que se negativicen con el tiempo, hay poca evidencia de que

esto pueda ocurrir en forma aguda por consumo, pero hay evidencia no reportada de que lentamente con el paso del tiempo los APL tienden a disminuir (31).

En nuestro estudio, observamos que 16 (51.6%) de 31 pacientes que ya tenían diagnóstico de SAF, en la medición actual salieron con APL negativos y únicamente 10 (32.3%) tuvieron APL positivos, estos positivos son menores a lo reportado en otros estudios internacionales en donde se reporta el 17% de positividad de los anticuerpos en pacientes con enfermedades del tejido conectivo (32). Llama la atención este gran porcentaje de pacientes ya que se ha visto que el SAF seronegativo es excepcional siendo su frecuencia menor al 10%, a pesar de esto, sabemos que los APL pueden fluctuar, por lo que se requeriría realizar más mediciones para corroborar que estos pacientes realmente son seronegativos.

Hay pocos estudios que han buscado una relación entre LES y la SP-D. Hoegh y cols (23) reportaron que los pacientes con LES tienen niveles más altos de SP-D que los controles; sin embargo, no encontraron ninguna relación con las manifestaciones, los valores de laboratorio, ni con la actividad de la enfermedad. Estos resultados concuerdan con nuestros hallazgos, en donde después de hacer el análisis multivariado no se correlacionaron los niveles de SP-D ni con la actividad de la enfermedad, ni con el tiempo de evolución ni con el tabaquismo. Esto sugiere que la sola presencia de LES favorece el aumento de las concentraciones de SP-D.

La relación entre niveles de SP-D y pacientes con LES con SAF añadido no ha sido estudiada. En este estudio se brinda evidencia de que los pacientes con SAF y LES tienen en promedio concentraciones más elevadas de SP-D que aquellos pacientes que solo tienen LES o SAF pero con APL negativo. Esta asociación se mantuvo cuando se ajustó para otras variables como tiempo de evolución, actividad de la enfermedad, tabaquismo y presencia de sintomatología respiratoria, esto porque el daño pulmonar se puede dar aún cuando las variables antes mencionadas cambien de un paciente a otro. Al dividir a los pacientes solo de acuerdo a la presencia de SAF también se hace evidente que la SP-D tuvo mayores concentraciones cuando el SAF estuvo presente, otra comparación importante es de acuerdo a las concentraciones altas de SP-D (mayores a 12.5 por observación) en donde se observó que en el grupo de SAF más pacientes tuvieron concentraciones altas que en el grupo solo con LES. Esto nos habla de que la presencia de dos enfermedades autoinmunes como el LES y SAF si aumenta la concentración de biomarcadores de daño pulmonar como la SP-D.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Dentro de las limitaciones de nuestro estudio tenemos que el número de pacientes no fue tan alto, sin embargo, a pesar de las pérdidas la magnitud del efecto (potencia 80%) fue

suficiente para corroborar los resultados, también se hace evidente la necesidad de un grupo control de pacientes sin LES que nos permitiera observar si el aumento de SP-D es exclusivo del grupo de pacientes con enfermedad autoinmune, y que nos permita corroborar que el solo tener LES aumenta las concentraciones de SP-D. De igual forma, se sugiere un futuro estudio longitudinal en donde se dé seguimiento a los pacientes que presentaron SP-D alta para ver si en algún momento desarrollan daño pulmonar.

PERSPECTIVAS A FUTURO

Proponemos que se continúe esta línea de investigación, agregando un grupo control para ver el comportamiento de la SP-D, se podría tomar una TAC de alta resolución a los pacientes que tuvieron concentraciones muy altas de SP-D para corroborar con las unidades Hounsfield y ver si hay cambios en la densidad pulmonar de este grupo. También se podría hacer un estudio longitudinal a los pacientes de este estudio para ver el comportamiento tanto de los APL como de la SP-D a través de los años en todos los grupos de estudio.

CONCLUSIONES

1. La presencia de SAF tiende a aumentar las concentraciones séricas de SP-D.
2. Los pacientes con SAF mostraron más síntomas respiratorios, sin embargo, estos no correlacionaron con las concentraciones de SP-D.
3. Los niveles de SP-D no correlacionaron con tiempo de evolución, daño a órgano, actividad de la enfermedad ni tabaquismo.
4. Los pacientes con SAF pueden presentar anticuerpos antifosfolípidos negativos con el paso del tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Macedo ACL, Isaac L. Systemic lupus erythematosus and deficiencies of early components of the complement classical pathway. *Front Immunol.* 2016;7(FEB):1–7.
2. Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol.* 2003;56(7):481–90.
3. Castrejón I, Rúa-Figueroa I, Rosario MP, Carmona L. Índices compuestos para evaluar la actividad de la enfermedad y el daño estructural en pacientes con lupus eritematoso: Revisión sistemática de la literatura. *Reumatol Clin.* 2014;10(5):309–20.
4. Serra G, Brun AL, Ialongo P, Chabi ML, Grenier PA. Thoracic involvement in connective tissue diseases: Radiological patterns and follow-up. *Jbr-Btr.* 2015;98(1):3–19.
5. Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I, Vrabie CD. Pulmonary manifestations of systemic autoimmune diseases. *Mædica.* 2011;6(3):224–9.
6. Adinolfi A, Valentini E, Calabresi E, Tesei G, Signorini V, Barsotti S, et al. One year in review 2016: systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* 2015;34(4):569–74.
7. Garcia J, Molina C. Lupus eritematoso sistémico. *Protoc diagnósticos y Ter en pediatría.* 2002;59–64.
8. Ruiz-Irastorza G, Crowther M, Branch W, Khamashta MA. Antiphospholipid syndrome. *Lancet.* 2010;376(9751):1498–509.
9. Gómez-Puerta JA, Cervera R. Diagnosis and classification of the antiphospholipid syndrome. *J Autoimmun.* 2014;48–49:20–5.
10. Brock CO neil., Brohl AS, Običan SG. Incidence, pathophysiology, and clinical manifestations of antiphospholipid syndrome. *Birth Defects Res Part C - Embryo Today Rev.* 2015;105(3):201–8.
11. Marcos Rodriguez PJ, Montero Martinez C, Vereá Hernando H. Hemorragia pulmonar y síndrome antifosfolípido primario : aportación de un caso y revisión de la literatura. *An Med Interna.* 2007;24(3):125–8.
12. Pierangeli SS. Síndrome antifosfolípido: mecanismos patogénicos, diagnóstico y tratamiento. *Medicina (B Aires).* 2008;409:111–24.
13. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost.* 2006;4(2):295–306.
14. Gómez-Puerta J, Espinosa G, Cervera R. Antiphospholipid Antibodies: From General Concepts to Its Relation with Malignancies. *Antibodies.* 2016;5(3):18.
15. Lirola MJ MC. 09_Síndrome_Antifosfolípido. *Protoc diagn ter pediatr.* 2014;1:79–89.
16. Ancochea J. Enfermedades pulmonares intersticiales difusas (EPID). *Neumosur.* 2007;18(1):7–19.
17. Tapia, R., Andrade, C., & González H. Enfermedad Pulmonar Intersticial difusa: revisión.

- Revista Chilena de Medicina Intensiva. 2006;87–96.
18. Perez-Gil J. El Sistema del Surfactante Pulmonar. *Investig Cienc.* 2010;38–45.
 19. Blanco Quirós A. Deficiencia genética de proteínas surfactantes y patología pulmonar. *Boletín La Soc Pediatría Astur Cantab Castilla Y León.* 2007;47:38–46.
 20. Cervera R. Síndrome antifosfolípido. 2009;8:215–9.
 21. Sole K. Mechanisms of thrombosis in antiphospholipid syndrome. *Nat Clin Pract Rheumatol.* 2006;2(4):176–176.
 22. Chaturvedi S, McCrae KR. Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome. *Blood Rev.* 2017;31(6):406–17.
 23. HOEGH S V., VOSS A, SORENSEN GL, HOJ A, BENDIXEN C, JUNKER P, et al. Circulating Surfactant Protein D Is Decreased in Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol.* 2009;36(11):2449–53.
 24. Nakae H, Endo S, Sato N, Yaegashi Y, Inada K, Sato S, et al. Surfactant protein A and D levels in patients with septic ARDS. *Int Congr Ser.* 2003;1255(C):221–4.
 25. Wang K, Ju Q, Cao J, Tang W, Zhang J. Impact of serum SP-A and SP-D levels on comparison and prognosis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Medicine (Baltimore).* 2017;96(23):e7083.
 26. Taraborelli M, Lazzaroni MG, Martinazzi N, Fredi M, Cavazzana F. The role of clinically significant antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *Reumatismo.* 2016;68(3):137–43.
 27. Afzal Hamdani DM, Parvez DK, Naseeb DF, Afzal DU, Bashiruddin D, Hope Cal DJ, et al. Systemic Lupus Erythematosus; Pulmonary Manifestations, a Clinical Study At a University Hospital, Saudi Arabia With Special Reference To High Resolution Computed Tomography (Hrct) Findings. *Prof Med J.* 2017;24(01):14–20
 28. Hamdani MA, Al-arfaj ARS, Parvez K. Pulmonary manifestations of systemic lupus erythematosus patients with and without antiphospholipid syndrome. 2015;31(1):3–8.
 29. Doyle TJ, Patel AS, Hatabu H, Nishino M, Wu G, Osorio JC, et al. Detection of rheumatoid arthritis-interstitial lung disease is enhanced by serum biomarkers. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;191(12):1403–12.
 30. Grosicka A, Manasar A, Kucharz EJ, Kotyla PJ. Serum concentration of surfactant protein D in patients with systemic sclerosis: The potential marker of the interstitial lung disease severity. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018;32(4):541–9.
 31. Hughes GRV; Khamashta MA. Seronegative antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2003;62(12):1.
 32. Ruiz-franco, Ó. E., Guerrero-vásquez, M. E., Montenegro-verástegui, C., Díaz-robles, D. A., Delgado-silva, C. A., Ruiz, M. M. De, ... San, M. De. (2011). Prevalencia de anticuerpos antifosfolípidos en pacientes con conectivopatías Prevalence of antiphospholipid antibodies in patients with connective tissue diseases, 187–190

ANEXOS

ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACION, INVESTIGACION Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACION DE INVESTIGACION EN SALUD
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre del estudio:	Relación de concentraciones séricas de SP-D en pacientes con lupus eritematoso sistémico con y sin anticuerpos antifosfolípidos
Lugar y fecha:	Puebla, Puebla a ____ de ____ del 20____.
Número de registro:	
Justificación y objetivo del estudio:	<p>Los anticuerpos antifosfolípidos están presentes en más del 40% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico, la asociación de los dos aumenta tanto la morbilidad como la mortalidad de los pacientes, la afección del pulmón es una de las principales causas de mortalidad, se han descrito patrones en la tomografía de estas afecciones en pacientes con lupus pero no hay estudios en pacientes con presencia de anticuerpos antifosfolípidos que demuestren el grado en que están afectados los pulmones, por otro lado se ha visto que existe una proteína llamada proteína surfactante D que ayudan a la inflamación, reparación y fibrosis en el pulmón. Al poder comprobar la participación de éstas proteínas, estos podrían ayudarnos a determinar el daño a los pulmones en pacientes con presencia de anticuerpos antifosfolípidos y lupus eritematoso sistémico, ayudando al diagnóstico oportuno y la reducción de la mortalidad por este tipo de afecciones.</p> <p>Objetivo: Comparar las concentraciones de SP-D en pacientes con lupus eritematoso sistémico con y sin la presencia de anticuerpos antifosfolípidos.</p>
Procedimiento:	Se aplicará cuestionario estructurado para la recolección de datos y

	se revisarán datos del expediente clínico, finalmente se tomará una muestra de sangre periférica.
Posibles riesgos y molestias:	Riesgo mayor que el mínimo. Dolor leve en el sitio de punción para la obtención de sangre periférica
Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio:	Los pacientes que cuenten con alteraciones respiratorias recibirán tratamiento para la mejora de las mismas, se identificará la actividad que su enfermedad presenta y se identificará la presencia de anticuerpos antifosfolípido para tomar medidas preventivas que reduzcan complicaciones o comorbilidades.
Información sobre resultados y alternativas de tratamiento.	Se le informará del resultado del estudio al paciente y en caso de requerir alguna valoración por otro especialista se le derivará de inmediato.
Participación:	Comprendo que mi participación en este estudio es voluntaria y puedo retirarme del mismo cuando Yo quiera, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.
Privacidad y confidencialidad:	Se mantendrá la privacidad y confidencialidad de los datos de pacientes según la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, así como lo dispuesto en la última revisión de la declaración de Helsinki.
En caso de colección de material biológico:	<input type="checkbox"/> No autorizo que se tome la muestra. <input type="checkbox"/> Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio.
Beneficios al término del estudio.	Con base en los resultados podrán proponerse programas de prevención y modificaciones al manejo de la enfermedad.
En caso de dudas o aclaraciones con este estudio dirigirse a:	Dra. Claudia Mendoza Pinto.
Colaboradores:	Dra. Mayra Esther Rojas Quintana. Dr. Luis Guillermo Vázquez de Lara Cisneros. Dr. Mario García Carrasco. Dra. Claudia Mendoza Pinto.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de ética de investigación de la CNIC del IMSS: Av. Cuauhtémoc 330 4° piso bloque “B” de la unidad de congresos, Colonia Doctores, México D.F. CP 06720 Teléfono: 01-55-5556276900 Ext: 21230 correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx

Nombre y firma del sujeto

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

Testigo 1

Testigo 2

Nombre, dirección, relación y firma

Nombre, dirección, relación y firma

ANEXO 2. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Datos de identificación

Nombre		Teléfono	
Afiliación		Fecha de nacimiento	
Edad al diagnóstico		Edad actual	
Nombre		Teléfono	
Afiliación		Fecha de nacimiento	

DM	Si	No	HAS	Si	No		
Tabaquismo	Nunca	Previo	Actual	Alcoholismo	Nunca	Previo	Actual
Número de cigarrillos al día				Actividad física, horas semanas			
Antecedente familiar enfermedad CV	Si	No	Antecedente familiar de DM	Si	No		
Enfermedad renal crónica	Si	No	Tratamiento diálisis	Si	No		
Edad al diagnóstico		Edad actual		Género	Fem.	Masc.	

Antecedentes personales

Antropométricos

Peso		TA sistólica	
Talla		TA diastólica	
IMC			

Variables relacionadas a LES

Duración de la Enfermedad (años)		Actividad de la enfermedad (SLEDAI 2K)		
Puntaje SLICC		Uso inmunosupresor	Si	No
Dosis actual de CTS mg/día		Anticuerpos antifosfolípido	Si	No
Tipo de manifestacion de SAF	Arterial	Venosa	Tipo de anticuerpo antifosfolípido	
SP-A	SP-D			

Sintomatología pulmonar

	Si	No
Falta de aire		
Falta de aire cuando camina rápido en una superficie plana, una superficie levemente inclinada o camino elevado		
Falta de aire cuando camina con otras personas a un ritmo normal superficie plana		
El tener que parar para coger aire cuando camina a su ritmo en superficie plana		
Falta de aire cuando usted se lava o se viste		
Falta de aire lo cual interfiere con su trabajo		
Tos, la cual produce flema espesa		
Tos, la cual lo despierta		
Tos, la cual se manifiesta cuando esta acostado		
Tos con sangre durante el último mes		
Dolor en el pecho cuando respira profundamente		
Cualquier otro síntoma o problema el cual usted cree que puede estar relacionado con problemas del pulmón. (Si, especificar)		

ANEXO 3. ÍNDICE SLEDAI

La actividad leve o inactiva muestra una puntuación baja (principalmente en los parámetros 2 al 4), mientras que la actividad moderada fluctuará entre 4 y 8. Finalmente, una actividad severa o grave o un brote siempre mostrará uno de cualquiera de los parámetros de valor igual a 8

PUNTOS	VARIABLE	DEFINICIÓN
8	Convulsiones	De inicio reciente. Excluir causas metabólicas, infecciosas o secundarias a drogas.
8	Psicosis	Psicosis Capacidad alterada para desarrollar actividades cotidianas debido a disturbio severo en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, pérdida marcada de asociaciones contenido pobre del pensamiento, notorio pensamiento ilógico, bizarro, desorganizado o conducta catatónica. Excluir uremia y causas secundarias a drogas.
8	Síndrome Orgánico Cerebral	Función mental alterada con deterioro de la orientación, memoria y otra función intelectual de inicio rápido y características clínicas fluctuantes, incapacidad para mantener la atención en el medio ambiente, más por lo menos dos de los siguientes: alteración e percepción, lenguaje incoherente, insomnio o somnolencia diurna, aumento o disminución de la actividad psicomotora. Excluir causas metabólicas, infecciosas y secundarias a drogas.
8	Trastorno visual	Cambios retinianos por LES. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos o hemorragia coroidea o neuritis óptica. Excluir hipertensión, infección o causas secundarias a drogas.
8	Trastorno de nervios craneanos	Inicio de neuropatía sensitiva o motora que involucra nervios craneanos. Incluye vértigo debido a Lupus
8	Cefalea lúpica	Cefalea severa, persistente; puede ser tipo migraña, pero NO DEBE responder a analgésicos narcóticos.
8	Accidente cerebrovascular	De inicio reciente: Excluir arteriosclerosis.
8	Vasculitis	Úlceras, gangrena, nódulos digitales dolorosos, infarto periungueales, hemorragias en astilla o biopsia o angiografía diagnóstica de vasculitis.
4	Artritis	> o Más de dos articulaciones con dolor y signos de inflamación (sensibilidad, tumefacción o derrame).
4	Miositis	Debilidad y dolor muscular proximal con CPK/aldolasa elevado cambios de EMG o biopsia que indican Miositis

4	Cilindros urinarios	Cilindros granulares O eritrocíticos.
4	Hematuria	Más de 5 gr por campo. Excluir cálculos u otros.
	Proteinuria	Mayor de 0,5 g/24h. de inicio reciente o incremento > de 0,5g/24 hrs
4	Piuria	Más de 5 leucocitos por campo. Excluir infecciones.
2	Rash	De inicio reciente o recurrencia de rash de tipo inflamatorio
2	Alopecia	De inicio reciente o recurrencia de pérdida de cabello anormal parche o difuso.
2	Úlceras mucosas	De inicio reciente o recurrencia de úlcera nasal u oral.
2	Pleuresía	Dolor pleurítico con frote pleural o derrame o engrosamiento pleural
2	Pericarditis	Dolor pericárdico y por lo menos 1 de los siguientes: frote, derrame o confirmación por EKG o ecocardiograma
2	Hipocomplementemia	Disminución en CH50, C3, C4 por debajo de límite inferior normal de laboratorio
2	Actividad del ADN	Actividad > del 25% por prueba de Farr o por encima del rango normal de laboratorio
1	Fiebre	> 38° C Excluir causa infecciosa
1	Trombocitopenia	< 100,000/mm ³ . Excluir causas secundarias a drogas
1	Leucopenia	< 3000/mm ³ . Excluir causas secundarias a droga

Guzmán J, Cardiel MH, Arce-Salinas A, Sánchez-Guerrero J, Alarcón-Segovia D. Measurement of Disease Activity in Systemic Lupus Erythematosus. Prospective Validation of 3 Clinical Indices. J Rheumatol 1992;19:1551-8.

ANEXO 4. ÍNDICE SLICC

PESO	VARIABLE	DEFINICIÓN
8	Convulsiones	De inicio reciente. Excluir causas metabólicas, infecciosas o secundarias a drogas.
8	Psicosis	Psicosis Capacidad alterada para desarrollar actividades cotidianas debido a disturbio severo en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, pérdida marcada de asociaciones contenido pobre del pensamiento, notorio pensamiento ilógico, bizarro, desorganizado o conducta catatónica. Excluir uremia y causas secundarias a drogas.
8	Síndrome Orgánico Cerebral	Función mental alterada con deterioro de la orientación, memoria y otra función intelectual de inicio rápido y características clínicas fluctuantes, incapacidad para mantener la atención en el medio ambiente, más por lo menos dos de los siguientes: alteración e percepción, lenguaje incoherente, insomnio o somnolencia diurna, aumento o disminución de la actividad psicomotora. Excluir causas metabólicas, infecciosas y secundarias a drogas.
8	Trastorno visual	Cambios retinianos por LES. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos o hemorragia coroidea o neuritis óptica. Excluir hipertensión, infección o causas secundarias a drogas.
8	Trastorno de nervios craneanos	Inicio de neuropatía sensitiva o motora que involucra nervios craneanos. Incluye vértigo debido a Lupus
8	Cefalea lúpica	Cefalea severa, persistente; puede ser tipo migraña, pero NO DEBE responder a analgésicos narcóticos.
8	Accidente cerebrovascular	De inicio reciente: Excluir arteriosclerosis.
8	Vasculitis	Úlceras, gangrena, nódulos digitales dolorosos, infarto periungueales, hemorragias en astilla o biopsia o angiografía diagnóstica de vasculitis.
4	Artritis	> o Más de dos articulaciones con dolor y signos de inflamación (sensibilidad, tumefacción o derrame).
4	Miositis	Debilidad y dolor muscular proximal con CPK/aldolasa elevado cambios de EMG o biopsia que indican Miositis
4	Cilindros urinarios	Cilindros granulares O eritrocíticos.
4	Hematuria	Más de 5 gr por campo. Excluir cálculos u otros.
	Proteinuria	Mayor de 0,5 g/24h. de inicio reciente o incremento > de 0,5g/24 hrs
4	Piuria	Más de 5 leucocitos por campo. Excluir infecciones.
2	Rash	De inicio reciente o recurrencia de rash de tipo inflamatorio
2	Alopecia	De inicio reciente o recurrencia de pérdida de cabello anormal parche o difuso.
2	Úlceras mucosas	De inicio reciente o recurrencia de úlcera nasal u oral.
2	Pleuresía	Dolor pleurítico con frote pleural o derrame o engrosamiento pleural

2	Pericarditis	Dolor pericárdico y por lo menos 1 de los siguientes: frote, derrame o confirmación por EKG o ecocardiograma
2	Hipocomplementemia	Disminución en CH50, C3, C4 por debajo de límite inferior normal de laboratorio
2	Actividad del ADN	Actividad > del 25% por prueba de Farr o por encima del rango normal de laboratorio
1	Fiebre	> 38° C Excluir causa infecciosa
1	Trombocitopenia	< 100,000/mm ³ . Excluir causas secundarias a drogas
1	Leucopenia	< 3000/mm ³ . Excluir causas secundarias a droga

Fuente: Gladman D, Urowits M. Prognosis, mortality and morbidity in systemic lupus erythematosus. In: Wallace D, Hahn D, editors. Dubois' Lupus Erythematosus, 7th ed. Lippincott-Williamns & Wilkins, 2006;pp:1346-7.

ANEXO 5. HOJA DE REGISTRO



Oficio No SIEP / C.I. / 044/2018
Asunto: Constancia de Registro

D.C. LUIS GUILLERMO VÁZQUEZ DE LARA
D.C. MARIO GARCÍA CARRASCO
D.C. CLAUDIA MENDOZA PINTO
MAYRA ESTHER ROJAS QUINTANA
PRESENTES:

El Comité de Investigación de la Facultad de Medicina de la B.U.A.P., a través de la Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado hace **CONSTAR** que el Proyecto de Investigación presentado en autoría Colectiva por:

- MAYRA ESTHER ROJAS QUINTANA
- D.C. LUIS GUILLERMO VÁZQUEZ DE LARA
- D.C. MARIO GARCÍA CARRASCO
- D.C. CLAUDIA MENDOZA PINTO

Titulado:

"RELACIÓN DE CONCENTRACIONES SÉRICAS DE SP-A, SP-D Y FIBROCITOS EN PACIENTES CON LUPUS ERYTEMATOSO SISTÉMICO CON Y SIN ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS"

Ha sido registrado en esta Secretaría con los siguientes datos:

Fecha de registro: 20 de abril de 2018.

Número de Libro: 2

Número de Hoja: 59

Número de Registro: 559

Vigencia:

Inicio 19 de abril 2018

Termino 30 de agosto de 2019

ATENTAMENTE

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"

H. PUEBLA DE Z., A 20 DE ABRIL DE 2018.

M.C. JOSE LUIS GANDARÍA RAMÍREZ
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

D.C. JORGE ALEJANDRO CEBADA RUIZ
SECRETARIO DEL COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

11 de abril de 2018

Facultad
de Medicina

13 Sur 2702, Col. Volcanes,
Puebla, Pue. C.P. 72410
01 (222) 229 55 00
Ext. 6047 y 6048

Recibo original
[Signature]
2404-2018

ANEXO 6. CUADRO DE VARIABLES DE ESTUDIO

Variable dependiente: SP-D.

Variable independiente: Anticuerpos antifosfolípidos

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA	VALOR
Anticuerpos Antifosfolípidos	Representan una familia de anticuerpos dirigidos contra un complejo de fosfolípidos unidos a una proteína plasmática	Prueba de sangre para anticuerpos Anticardiolipina (IgG, IgM) y anticoagulante lúpico	Nominal/Dicotómica	1= Presente 0= Ausente
SP-D	Consiste en monómeros de 43 kD que se unen en tetrámeros y luego en polímeros en forma de cruz, promueve la opsonización y fagocitosis por macrófagos, también protege al pulmón de la inflamación causada por contaminantes y por estrés oxidativo.	Niveles séricos de SP-D	Numérica/Continua	U/μl
Tipos de tratamiento	Conjunto de medios de cualquier clase: quirúrgicos, fisiológicos, farmacológicos, etc. Su objetivo es paliar o curar los síntomas detectados a través de un diagnóstico.	Expediente clínico	Nominal/Politémica	
Manifestación del SAF	Síntomas por los cuales el paciente busca la atención médica	Referida por el paciente	Nominal/Dicotómica	1= Arterial 2= Venosa
Peso	Medida de la fuerza gravitatoria que actúa sobre un cuerpo.	Báscula	Numérica/Continua	Kg
Talla	Estatura de una persona. Medida desde la planta del pie hasta el vértice de la cabeza.	Estadiómetro	Numérica/Continua	Cm
IMC	Método ocupado para estimar la cantidad de grasa corporal que tiene una persona.	Peso/estatura ²	Numérica/Continua	Kg/m ²
Tabaquismo	Intoxicación aguda o crónica producida por el consumo de tabaco.	Referida por el paciente	Nominal/Dicotómica	1=Sí 2=No
Alcoholismo	Abuso de bebida alcohólica	Referida por el paciente	Nominal/Dicotómica	1=Sí 2= No

VARIABLES DE AJUSTE

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	ESCALA	VALOR
Edad	Tiempo que una persona ha vivido desde su nacimiento.	Años de vida cumplidos al momento de la entrevista	Numérica/Continua	Años
Grado de actividad del LES	Grado de actividad del LES en cualquier momento dado, y que puede oscilar desde la remisión o actividad mínima o nula, hasta la actividad grave que comprometa la vida del paciente.	Índice SLEDAI	Cuantitativa/Ordinal	1= Leve 2= Moderada 3= Severa
Daño del LES	Presencia de afectación orgánica y daño tisular irreversible por LES, independientemente que su causa sea por la propia enfermedad, por drogas o comorbilidad desde el inicio de la enfermedad, y para cuya evaluación es necesario que los signos y síntomas se manifiesten al menos seis meses previos.	Índice SLICC/ACR	Cuantitativa/Ordinal	1= Ausente 2= Moderada 3= Severa
Tiempo de evolución	Intervalo entre el comienzo de los síntomas y el momento actual	Expediente clínico	Numérica/Continua	Años

ANEXO 7. ASPECTOS ÉTICOS

Este protocolo de investigación sigue los lineamientos establecidos por el Código de Núremberg, está apegado a los principios básicos de la declaración de Helsinki, el Informe de Belmont, las pautas establecidas en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud en sus títulos I,II, III y IV, que indica riesgo mínimo, el artículo 14 en Materia de Control Sanitario para la Disposición de Órganos, Tejidos y sus derivados y Cadáveres de Seres Humanos y la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2007 que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.

ANEXO 8. LOGÍSTICA

RECURSOS HUMANOS

Alumna de la Maestría en Ciencias Médicas e Investigación: Mayra Esther Rojas Quintana

Director de tesis: DC. Luis Guillermo Vázquez de Lara

Co- Directores: D.C. Mario García Carrasco, D.C. Claudia Mendoza Pinto

RECURSOS MATERIALES

Se cuenta con los recursos materiales del laboratorio de Medicina Experimental de la Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y de la Unidad Médica de Alta Especialidad Manuel Ávila Camacho del Instituto Mexicano del Seguro Social.

RECURSOS FINANCIEROS

Los recursos económicos serán proporcionados por la Facultad de Medicina de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y de la Unidad Médica de Alta Especialidad Manuel Ávila Camacho del Instituto Mexicano del Seguro Social.