



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS  
DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**“PAPEL DE LOS COMPONENTES DE LA TRIADA ECOLÓGICA EN EL  
SÍNDROME DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS”**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**PRESENTA:  
M.C. ELIZABETH HERRERA SALDÍVAR**

**TUTORA:  
D.C. MARIA LILIA CEDILLO RAMÍREZ**

**ASESOR:  
D.C. JORGE ANTONIO YÁÑEZ SANTOS**



**Puebla, México 2014**

## COLABORADORES

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES IMSS SAN JOSÉ:

- D.C. y Médico Especialista en Reumatología: David Bañuelos Ramírez.
- Médico Especialista en Reumatología: Salvador Salinas Saldívar.
- Enfermera General: María Elena Balcázar Sánchez.

Este trabajo fue financiado con recursos del CONACyT.

## ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	6
<b>ANTECEDENTES</b>	8
<b>ANTECEDENTES GENERALES:</b>	8
TRIADA ECOLÓGICA	8
a) MEDIO AMBIENTE	9
b) HOSPEDERO	12
SÍNDROME DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS (SAF)	14
c) AGENTE	22
MICOPLASMAS	23
<b>ANTECEDENTES ESPECÍFICOS</b>	27
MICOPLASMAS Y SÍNDROME DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS	27
RELACIÓN MICOPLASMAS-MEDIOAMBIENTE	28
GENERALIDADES DE LA LOCALIDAD DE MIRAFLORES, EDO. DE MEX.	29
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	32
<b>HIPÓTESIS</b>	33
<b>OBJETIVOS</b>	
a) OBJETIVO GENERAL	33
b) OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
<b>MATERIAL Y MÉTODOS.</b>	
DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESTRATEGIAS DE TRABAJO	34
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICOPLASMAS	35
MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM)	36
ANÁLISIS DE DATOS	36
<b>RESULTADOS</b>	37
<b>DISCUSIÓN</b>	51
<b>CONCLUSIONES</b>	56
<b>REFERENCIAS</b>	57
<b>ANEXOS</b>	63

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

<b>FIGURA</b>	<b>TITULO</b>	<b>PAGINA</b>
1	TRIADA ECOLOGICA	8
2	CRECIMIENTO COLONIAL DE MICOPLASMAS	24
3	RIOS QUE ATRAVIESAN EL MUNICIPIO DE SAN MATEO TEZOQUIPAN MIRAFLORES, CHALCO, ESTADO DE MEXICO.	29
4	IMAGEN DE LA LOCALIDAD DE SAN MATEO TEZOQUIPAN MIRAFLORES	30
5	LOCALIZACIÓN GEOGRÁFICA DE LA LOCALIDAD DE SAN MATEO TEZOQUIPAN MIRAFLORES, CHALCO, ESTADO DE MÉXICO.	31
6	PREVALENCIA DE EVENTOS VASCULARES EN LAS PACIENTES CON SAF	37
7	PREVALENCIA DE EVENTOS VASCULARES EN LAS PACIENTES CON LES.	38
8	ESQUEMAS DE TRATAMIENTO EN LAS PACIENTES CON SAF SECUNDARIO Y LES.	39
9	CRECIMIENTO DE MICOPLASMAS EN PACIENTES CON SAF Y LES.	40
10	CRECIMIENTO DE MICOPLASMAS EN PACIENTES CON DIFERENTES ESQUEMAS DE TRATAMIENTO	41
11	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DONDE SE MUESTRA LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE MICOPLASMAS OBTENIDOS DEL CULTIVO EN PLACA DE SANGRE DE LAS PACIENTES.	42
12	ACERCAMIENTO A LAS BIOPELÍCULAS DE MICOPLASMAS OBTENIDOS DE CULTIVOS EN PLACA DE LAS PACIENTES.	43
13	ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSA (EDS) DEL CONTROL NEGATIVO DEL CULTIVO EN PLACAS, DONDE NO SE DETECTA LA PRESENCIA DE ZINC.	44
14	ESPECTROMETRÍA DE ENERGÍA DISPERSA (EDS) DEL CULTIVO DE CONTROL POSITIVO DE MICOPLASMAS CEPA GTU EN PLACA, DONDE SE APRECIA CONTENIDO DE ZINC.	45
15	ESPECTROMETRÍA DE ENERGÍA DISPERSA (EDS) DEL CULTIVO POSITIVO DE MICOPLASMAS EN PLACA OBTENIDO DE LAS PACIENTES ESTUDIADAS, DONDE SE APRECIA CONTENIDO DE ZINC.	46
16	ANÁLISIS DE LOS COMPONENTES DE MICOPLASMAS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSA (EDS) OBTENIDOS DE EL CULTIVO POSITIVO EN PLACA DE LAS PACIENTES ESTUDIADAS DONDE SE APRECIA CONTENIDO DE ZINC.	47
17	CONVIVENCIA CON AVES DE ORNATO Y DE CORRAL EN PACIENTES CON SAF SECUNDARIO.	48
18	CONVIVENCIA CON AVES DE ORNATO Y DE CORRAL EN PACIENTES CON LES.	49
19	COMPARATIVO DE LOS PORCENTAJES DE CONVIVENCIA CON AVES EN PACIENTES CON SAF SECUNDARIO Y LES.	49

20	COLINDANCIA DE LAS PACIENTES CON RÌOS CONTAMINADOS Y TIRADEROS DE BASURA.	50
21	USO FRECUENTE DE INSECTICIDAS EN LAS PACIENTES CON SAF SECUNDARIO Y LES.	50

<b>TABLA</b>	<b>TITULO</b>	<b>PAGINA</b>
1	Criterios Revisados 1982 y actualizados en 1997 para la clasificación del Lupus Eritematoso Generalizado	19
2	Comparación de sitio anatómico primario de colonización y sustrato metabólico que requieren las especies de micoplasmas de interés médico	25

## RESUMEN.

El desarrollo económico y tecnológico que lleva hacia la globalización ha generado avances notables en medicina que benefician a la humanidad, sin embargo, esto también ha provocado un deterioro ambiental pronunciado que afecta la calidad de vida y genera nuevos riesgos a la salud. La triada ecológica está integrada por tres elementos (agente, huésped susceptible y ambiente) que interactúan en el proceso de salud-enfermedad. La relación entre ellos no siempre tiene como consecuencia la enfermedad. Ello va a depender de las características propias y de las condiciones en que se da la relación, y del tiempo de exposición del huésped al/los agente/s causal/les. La enfermedad es el resultado del desequilibrio entre el agente agresor y el huésped susceptible en un medio ambiente propicio, que los pone en contacto mediante la existencia de mecanismos de producción, o transmisión. El SAF es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la presencia de una mezcla heterogénea de anticuerpos antifosfolípidos y por trombosis como la manifestación clínica más común y en mujeres embarazadas además se asocia a pérdida fetal. Esta enfermedad puede afectar a los vasos de cualquier órgano ya sean de tipo venoso o arterial. La etiología y patogenia de estos anticuerpos no se conoce bien pero se han propuesto varias hipótesis para explicar su origen y mantenimiento. Una de ellas es la hipótesis del **mimetismo molecular** la cual propone que los anticuerpos antifosfolípidos se producen como resultado de la invasión de bacterias que producen proteínas muy parecidas a la beta-2 glicoproteína I. Los micoplasmas son bacterias pequeñas que se auto replican, poseen mecanismos para evadir la respuesta inmunitaria del hospedero y se caracterizan principalmente porque carecen de pared celular. Se han encontrado varios casos en los que el SAF está asociado a la infección por micoplasmas. Se sabe que algunas especies de micoplasmas pueden transmitirse de manera horizontal entre animales y humanos, y se ha demostrado que estas bacterias pueden persistir en el ambiente ya que ambos pueden servir como reservorio.

El objetivo de este trabajo fue analizar los componentes de la triada ecológica (medio ambiente, hospedero y microorganismo) que pudieran modificar el curso del Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos, para lo cual en este estudio se incluyó a 37 pacientes derechohabientes que acudieron al servicio de Reumatología del IMSS, y que previamente fueron diagnosticadas según los criterios internacionales para SAF y/o LES además de ser portadoras de micoplasmas. Posteriormente se les administró claritromicina (50 mg/día) por 10 días durante un periodo de tres meses. Después de concluido el tratamiento se les realizó una nueva toma de sangre para su cultivo y procesamiento en búsqueda de micoplasmas. Paralelamente se estudiaron las variables

relacionadas con el medio ambiente, el hospedero y el microorganismo con el fin de tratar de identificar el hábitat natural del microorganismo.

Las muestras de sangre de las pacientes y las del medio ambiente fueron sometidas a cultivo en búsqueda de micoplasmas, PCR, y microscopía electrónica de barrido. Los resultados obtenidos mostraron crecimiento bacteriano en las pacientes y en las muestras del medio ambiente positivo para micoplasma, sin embargo después de la administración del tratamiento con antibiótico el cultivo se negativizó en las pacientes. Las muestras analizadas del medio ambiente presentaron crecimiento bacteriano en los medios de cultivo, sin embargo al ser analizadas mediante PCR no mostraron ser micoplasmas de interés médico. La microscopía electrónica de barrido mostró la formación de biopelículas de los micoplasmas obtenidos de las muestras de las pacientes, y mediante espectrometría de energía dispersa se pudo analizar los componentes de los micoplasmas y encontramos un alto contenido en los niveles de zinc, algo que hasta el momento no ha sido descrito en la literatura científica.

Con base en lo anterior se concluye que la eliminación del componente microbiano de la triada ecológica mediante el uso de antibiótico (claritromicina) contra micoplasma mejoró el curso de la enfermedad en las pacientes disminuyendo su sintomatología general, y negativizó los cultivos de micoplasma en sangre. El análisis mediante SEM en las muestras obtenidas del ambiente reporta un alto contenido de zinc en las bacterias, probablemente involucrado en la patogénesis de la enfermedad. Los factores ambientales referidos por las pacientes pueden jugar un papel importante en el curso de la enfermedad pero es necesario aumentar el tamaño de muestra para comprobar esta idea.

## ANTECEDENTES GENERALES.

El modelo ecológico para el proceso salud-enfermedad sostiene que ésta resulta de la interacción agente-huésped-medio ambiente en un contexto tridimensional que descubre tanto las relaciones de factores causales entre sí como las relaciones directas con el efecto. Este modelo ha permitido asignar un valor específico a cada factor involucrado en el proceso de estudio. Actualmente es necesario retomar el análisis de los componentes de la triada ecológica ya que en ellos se encuentra inmerso el origen y la solución a los problemas de salud que afectan a los seres vivos.

## TRIADA ECOLÓGICA.

Son tres elementos (agente, huésped susceptible y ambiente) que interactúan en el proceso de salud-enfermedad. La relación entre ellos no siempre tiene como consecuencia la enfermedad. Ello va a depender de las características propias y de las condiciones en que se da la relación, y del tiempo de exposición del huésped al/los agente/s causal/les.<sup>81</sup>

La enfermedad es el resultado del desequilibrio entre el agente agresor y el huésped susceptible en un medio ambiente propicio, que los pone en contacto mediante la existencia de mecanismos de producción, o transmisión.

El conocimiento de las características de estos elementos: agente, huésped y medio ambiente, es fundamental para conocer mejor los problemas en observación y para establecer los sistemas de control más convenientes.<sup>81</sup>

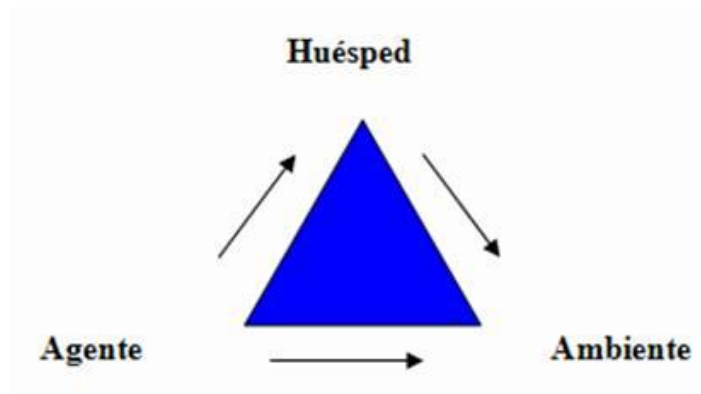


FIGURA 1. Representación esquemática de la triada ecológica. Tomada de Vargas 1999<sup>81</sup>.



## A) MEDIO AMBIENTE.

El medio ambiente cobra gran importancia en el proceso y aparición del desarrollo de los procesos mórbidos y es un elemento que actúa activa y constantemente en la producción y evitación de los mismos, influyendo tanto sobre la susceptibilidad del huésped como en los mecanismos de transmisión, el reservorio y los agentes causales.<sup>81</sup>

El medio ambiente es importante para la existencia de una determinada patología, ya que de él depende en gran parte la presencia o persistencia de distintas fuentes de infección o de producción de agentes estáticos.<sup>5</sup>

El medio ambiente está compuesto por factores:

- Físicos.**- Representado por las características geográficas y climatológicas de la zona, las condiciones del aire, del agua etc. que pueden ser generales a dicha zona o región o limitarse a la habitación, escuela, lugares de trabajo o de recreo, etc.
- Biológicos.**- compuesto por la flora y fauna del lugar en estudio, pueden actuar como huéspedes definitivos o intermediarios, o enfermar y contaminar otros animales y al hombre.
- Sociales.**- Puede limitarse al núcleo familiar, de trabajo o estudio, o extenderse a todas los habitantes de una zona. Del medio social se estudia su economía, nivel cultural, organización social, política, religión, movimientos migratorios, hacinamiento, organización sanitaria, etc.<sup>81</sup>

Evidentemente el desarrollo económico y tecnológico que lleva hacia la globalización ha generado avances notables en medicina que benefician a la humanidad, sin embargo, esto también ha provocado un deterioro ambiental pronunciado que afecta la calidad de vida y genera nuevos riesgos a la salud<sup>2</sup>. Por ejemplo, se ha estimado que en los países industrializados un 20 % de la incidencia total de enfermedades puede atribuirse a factores ambientales<sup>1</sup>. Aún existen dificultades para identificar con exactitud la relación causal entre ambiente y salud, dado que la exposición a estos factores es compleja y porque la información disponible sobre las enfermedades relacionadas a cambios en el ambiente procede de la experimentación con animales, estudios de laboratorio, epidemiológicos y toxicológicos, por lo tanto solo se pueden hacer estimaciones de posibles riesgos. Por ejemplo, algunas sustancias en el ambiente por debajo de ciertos niveles no son peligrosas, aunque otros agentes como alérgenos, radiaciones ionizantes o preparados químicos carcinógenos pueden suponer un riesgo a niveles más bajos de los calculados, porque su acción varía dependiendo las condiciones ambientales particulares del sitio donde se encuentren

<sup>50</sup>.

Cada día hay más evidencias del impacto que tiene el cambio climático sobre la salud <sup>50,60,71</sup> y estudios sugieren que nuestro país es uno de los más vulnerables debido al aumento de la morbilidad por olas de calor cada vez más frecuentes en intensidad y duración en los próximos años <sup>8,10</sup>. Esto es muy importante porque las temperaturas extremas (calor y frío) están asociadas con aumentos de la mortalidad general en la mayoría de los casos por enfermedades cardiovasculares y respiratorias<sup>26</sup>. Diversos estudios han comprobado que en las últimas décadas se está produciendo un progresivo aumento de la temperatura del planeta a una velocidad mucho mayor que la explicable únicamente por causas naturales <sup>59</sup>. Esto a su vez está ocasionando diversas alteraciones secundarias que impactan de manera significativa en el riesgo a enfermedades <sup>48</sup>. Por ejemplo, se ha descubierto que los cambios en la temperatura han influido de manera importante en la distribución de organismos vectores de enfermedades subtropicales que están adaptados a sobrevivir en climas cálidos y más secos, provocando la aparición de enfermedades como el dengue, enfermedad del Nilo Occidental y malaria en regiones donde nunca se habían presentado casos. <sup>26,60,61</sup>

También se ha reportado el impacto humano en la deforestación y la transmisión de la enfermedad de Chagas, en un estudio se demostró que en áreas perturbadas se incrementa la propagación del vector de *Trypanosoma cruzi* porque tienen mayor contacto con los reservorios, mientras que en áreas con más vegetación disminuye su diseminación <sup>37</sup>.

Actualmente es complicado determinar las consecuencias exactas del cambio climático sobre la salud humana porque involucra procesos cambiantes y complejos <sup>68</sup>. Esto se debe a que generalmente se ignoran procesos claves que desde el punto de vista biológico determinan el proceso salud-enfermedad. Dentro de un contexto ecológico, se debe considerar por un lado que existe variación en cuanto a la respuesta inmunitaria del individuo y los mecanismos que posee el parásito para infectarlo y por otro lado el cómo los factores ambientales influyen en esta variación espacio temporal en la interacción entre el patógeno y el hospedero <sup>54</sup>. En el pinzón *Carpodacus mexicanus* encontramos un claro ejemplo de ello, investigadores demostraron que los individuos sometidos a una alta competencia social tuvieron menor resistencia contra la infección de *Mycoplasma gallisepticum* y además se encontró que existe una correlación entre la densidad de los individuos y la prevalencia de la enfermedad <sup>42</sup>. Varios autores han sugerido que el estrés generado por el cambio climático tiene efectos negativos sobre la respuesta inmunitaria de diversos organismos incluido el humano, porque se ha comprobado que los gluco-corticoesteroides inhiben la producción de citocinas proinflamatorias <sup>2</sup>.

Por esta razón, se han elaborado varios modelos que ayudan a explicar el proceso salud-enfermedad considerando esta variación, la triada ecológica es un modelo que trata de explicar el proceso salud-enfermedad considerando la interacción dinámica entre el individuo, el agente

causal y el ambiente, además ha mostrado ser efectivo para el control de enfermedades epidemiológicas, como por ejemplo la obesidad <sup>25</sup>. Desde esta perspectiva se pueden elaborar estrategias adecuadas para el control de otras enfermedades y para ello es indispensable identificar los factores del hospedero (fisiología, conducta, desarrollo) del vector (densidad, disponibilidad de alimento, reproducción) y del ambiente (nivel económico y sociocultural, política) <sup>24</sup>. En este sentido el modelo de la triada ecológica puede ayudar a comprender enfermedades de importancia médica, por ejemplo el síndrome de anticuerpos antifosfolípido (SAF).

## B) HOSPEDERO

Es cualquier ser vivo animal o vegetal que en circunstancias naturales permite la subsistencia o el alojamiento de un agente causal de la enfermedad. Entre los factores propios del huésped están: la estructura genética, la raza, la edad, el sexo, la inmunidad, la nutrición, los aspectos psicológicos, los hábitos, la ocupación, condición clínica. También se debe considerar que cada ser humano reacciona diferente ante el mismo agente <sup>81</sup>

El progreso en la salud ha sido simultáneo al progreso en la calidad ambiental, la alimentación y la atención médica. Las personas que enferman tienen más posibilidades de sobrevivir debido a una mejor atención médica, y la gran mayoría de las que están saludables en cualquier época, ahora están más propensas a permanecer así a causa de una mejor alimentación y al control de los peligros ambientales.<sup>86</sup>

La ciencia de la salud ambiental se basa en esencia en dos aspectos: uno que estudia los peligros en el ambiente, sus efectos en la salud y las variaciones en la sensibilidad frente a las exposiciones dentro de las comunidades, y otro que explora el desarrollo de medios efectivos para la protección contra los peligros en el ambiente.<sup>86</sup>

En la Constitución de la Organización Mundial de la Salud, la salud se define como “un estado de completo bienestar físico, mental y social y no meramente la ausencia de enfermedad o incapacidad” (1948). Esta es la más usual y conocida definición moderna de salud. Los conceptos de enfermedad, incapacidad y muerte tienden a ser mucho más fáciles de identificar para los profesionales de la salud que el concepto de salud. Como resultado, las ciencias de la salud han sido en su mayor parte ciencias de las enfermedades, puesto que han centrado mucho más su atención en el tratamiento de las enfermedades y las lesiones que en mejorar la salud.<sup>86</sup>

Las condiciones de vida y de trabajo pobre y la carencia de educación son los impedimentos más importantes para la salud. A través de los años se ha llegado a la conclusión que no se pueden alcanzar logros en la salud si no se hacen cambios sustanciales en las condiciones económicas y sociales. La política de “Salud Para Todos” de la Organización Mundial de la Salud (OMS), establecida en la conferencia de Alma-Atá en la antigua URSS en 1978, está orientada al propósito de ofrecer servicios de salud integrales en estas esferas.<sup>73</sup>

La degradación y la contaminación ambiental tienen un impacto enorme en la vida de las personas. Cada año, cientos de millones de personas sufren de enfermedades respiratorias asociadas con la contaminación externa y de interiores del aire. Centenares de millones de personas se exponen a peligros físicos y químicos innecesarios en el lugar de trabajo y el ambiente general. Medio millón mueren como resultado de accidentes de tránsito. Cuatro millones de niños mueren cada año de

enfermedades diarreicas, en su mayor parte como resultado de agua o alimentos contaminados. Centenares de millones de personas sufren morbilidad por parásitos intestinales. Dos millones de personas mueren de malaria cada año, mientras 267 millones de personas la padecen en cualquier época. Tres millones de personas mueren cada año de tuberculosis y 20 millones están enfermos de este mal. Cientos de millones sufren desnutrición. Potencialmente, todos estos problemas de salud pueden prevenirse.<sup>73,81</sup>

## INTERACCIÓN HUMANA CON EL AMBIENTE

La salud humana finalmente depende de la capacidad de una sociedad para mejorar la interacción entre las actividades humanas y los ambientes físico, químico y biológico. Esto debe hacerse de manera que se salvaguarde y promocióne la salud humana, pero sin amenazar la integridad de los sistemas naturales de los cuales depende el ambiente. Los ambientes físico y biológico incluyen todo, desde los ambientes inmediatos de trabajo y el hogar hasta el nivel regional y nacional y, desde luego los ambientes globales. Esto incluye mantener un clima estable y la continua disponibilidad de recursos ambientales seguros de los sistemas naturales que reciben los desechos producidos por las sociedades humanas, sin exponer a las personas a patógenos y sustancias tóxicas y sin comprometer el bienestar de futuras generaciones.<sup>71,81</sup>

Por mucho tiempo se ha reconocido la idea de un nexo inexorable entre la salud humana y el ambiente. Hace 100 años, el cacique indio Seattle, un líder indígena en el territorio de Washington, EUA, habló de manera patética de nuestra relación con la tierra en un discurso muy citado: "Nosotros somos una parte de la trama de la vida y cualquier cosa que le hagamos a ella, nos la hacemos a nosotros mismos". Así, cuando pensamos en la salud como un estado físico, mental y social completo, se debe reconocer que esto también incluye un contexto de bienestar ecológico.<sup>68</sup>

La salud, que involucra el desarrollo pleno del potencial humano, requiere tanto de una economía adecuadamente próspera, como de un ambiente viable y una comunidad sana. Toda la actividad económica debería asegurar que el ambiente sea sostenible y que no destruya el capital humano y social ni los recursos de la sociedad. Los beneficios de una actividad económica necesitan ser distribuidos de forma equitativa, tanto dentro como entre las naciones, sociedades y comunidades. Esto conduce al importante concepto de participación como una parte integral de un desarrollo sostenible.<sup>86</sup>

## **SÍNDROME DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS (SAF)**

### **I. Definición**

El síndrome antifosfolípidos o síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (SAFL), también llamado a veces síndrome Hughes, es un estado autoinmune de hipercoagulabilidad causado por anticuerpos dirigidos contra los fosfolípidos de las membranas celulares. Este estado provoca una susceptibilidad aumentada a la formación de coágulos intravasculares (trombosis) tanto en arterias como en venas como así también complicaciones relacionadas con el embarazo tales como abortos espontáneos, muerte fetal, partos pre término, o pre eclampsia severa<sup>72</sup>.

El SAF es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la presencia de una mezcla heterogénea de anticuerpos antifosfolípidos y por trombosis como la manifestación clínica más común y en mujeres embarazadas además se asocia a pérdida fetal<sup>51</sup>. Esta enfermedad puede afectar a los vasos de cualquier órgano ya sean de tipo venoso o arterial<sup>41</sup>. Actualmente se consideran al menos dos categorías de SAF, el primario donde los pacientes que tienen el padecimiento no muestran otra enfermedad asociada, y el secundario que ocurre cuando los pacientes presentan una patología asociada como Lupus Eritematoso Sistémico (LES) u otra enfermedad del tejido conectivo<sup>3</sup>.

Se estima que la prevalencia de esta enfermedad en personas aparentemente sanas es de 1 a 5%, en su mayoría mujeres de entre 20 a 40 años de edad y con frecuencia se asocia a LES<sup>3</sup>.

### **II. Etiología**

La etiología del SAF es desconocida, pero su patogenia autoinmune se fundamenta por la presencia de una familia de anticuerpos que reaccionan con múltiples proteínas plasmáticas, fosfolípidos aniónicos y la combinación proteína-fosfolípido<sup>13,33,62</sup>.

La etiología y patogenia de estos anticuerpos no se conoce bien pero se han propuesto varias hipótesis para explicar su origen y mantenimiento.

Una de ellas es la hipótesis del **mimetismo molecular** la cual propone que los anticuerpos antifosfolípidos se producen como resultado de la invasión de bacterias que producen proteínas muy parecidas a la beta-2 glicoproteína I, como en el caso de *Haemophilus influenzae* y *Neisseria gonorrhoeae*<sup>4,36</sup>.

### III. Fisiopatología

El mecanismo que lleva a la respuesta autoinmune no es claro hasta el momento, pero se han propuesto varias explicaciones. La hipótesis del mimetismo molecular sugiere que los anticuerpos de beta-2 glicoproteína 1 (b2GP-1) se producen como resultado de la invasión por bacterias que al ingresar al hospedero producen proteínas muy parecidas a esta, lo cual está sustentado por experimentos con ratones preñados que fueron inoculados con bacterias de *H influenzae* y *N gonorrhoeae*<sup>33,36</sup>.

Otra posibilidad es que las proteínas plasmáticas unidas a fosfolípidos de carga negativa sean expuestas como neoantígenos en la superficie del endotelio vascular previamente dañado, como puede suceder en una vasculitis en el LES o a través de lesión endotelial por otros mecanismos y agentes etiológicos<sup>63</sup>. También se postula que los fosfolípidos de las vejigas derivadas de la apoptosis celular son los principales inmunógenos en este síndrome. No se conoce el mecanismo que lleva a la trombosis en los pacientes con SAF, pero en experimentos *in vitro* se ha observado que la mayoría de estos autoanticuerpos interfieren con la activación de la protrombina, alterando la actividad anticoagulante fisiológica. Probablemente interfieren en las reacciones que ocurren en la superficie de las membranas del endotelio vascular donde participan la b2GP-1 y otras sustancias o bien alterando la actividad de la célula endotelial, plaquetas y monocitos, resultando en trombosis<sup>3,67</sup>.

### IV. Cuadro clínico

Las manifestaciones clínicas más frecuentemente reconocidas del SAF son la trombosis venosa y/o arterial y la pérdida fetal.

La trombosis de tipo venosa es muy notoria por su severidad en la vena central renal, hepática, pulmonar, retinal y de la vena cava inferior. En tanto que la trombosis arterial es menos frecuente y generalmente afecta al cerebro (50%) o corazón (25%). El compromiso arterial se puede manifestar inicialmente en forma de ataque isquémico transitorio o de infarto cerebral, particularmente en sujetos jóvenes y sin otros factores de riesgo para enfermedad vascular cerebral<sup>63</sup>. Otras manifestaciones del SAF son trombocitopenia (40-50%), anemia hemolítica (14-23%) y livedo reticularis (11-23%). Las complicaciones durante el embarazo se presentan durante el segundo trimestre llegando a pérdidas en el 20% de los casos, han sugerido que esto se debe a la activación de la vía del complemento<sup>3</sup>.

## V. Diagnóstico

Existen dos tipos de diagnóstico:

a) Clínico. Está basado en el historial y en las manifestaciones de la enfermedad.

b) De laboratorio. Donde las principales alteraciones que se observan en el SAF son las que se derivan de la presencia del anticoagulante lúpico junto con la presencia de los anticuerpos anticardiolipina y la trombocitopenia, ya que hasta el momento no se cuenta con una prueba universal <sup>51</sup>.

En este sentido los métodos de diagnóstico más recomendables son el tiempo de coagulación de caolín y el de veneno de víbora de Russell diluido, aunque para la detección de los anticuerpos anticardiolipina es recomendable la prueba de ELISA en donde como sustrato se emplea cardiolipina dependiente de b2GP-1. El diagnóstico debe sospecharse en todo paciente con trombosis venosa y/o arterial sin causa aparente, en sujetos jóvenes con cuadros de isquemia, infarto cerebral o del miocardio y en trombosis recurrente sin factores de riesgo o en sitios poco frecuentes, pero sobre todo en mujeres con pérdidas fetales recurrentes e inexplicables <sup>22,41,51</sup>.

### Criterios clínicos:

#### 1. Trombosis vascular

Uno o más episodios clínicos de trombosis arterial, venosa o de pequeños vasos, en cualquier tejido u órgano. Con excepción de la trombosis venosa superficial, los episodios de trombosis deben confirmarse mediante un estudio de imagen o doppler o histopatológicamente.

En la confirmación histopatológica la trombosis debe estar presente, sin evidencias importantes de inflamación de la pared vascular.

#### 2. Morbilidad durante el embarazo

a) Una o más muertes inexplicables de fetos morfológicamente normales hacia o después de la semana 10 de la gestación, con morfología fetal normal documentada por ultrasonido y mediante examen directo del feto o

b) Uno o más partos prematuros de neonatos morfológicamente normales hacia o después de la semana 34 de gestación, secundario a pre eclampsia o eclampsia severas o insuficiencia placentaria severa o



- c) Tres o más abortos espontáneos consecutivos de causa inexplicable antes de la semana 10 del embarazo, habiéndose excluido alteraciones maternas anatómicas u hormonales y alteraciones cromosómicas maternas y paternas.

En estudios de población de pacientes que tienen más de 1 tipo de morbilidad durante el embarazo, se recomienda estratificar los grupos de pacientes de acuerdo a las diferentes categorías a, b, o c.

#### **Criterios de laboratorio.**

1. Presencia en la sangre de anticuerpos Anticardiolipina de isotipo IgG o IgM, a título medio o alto, en dos o más ocasiones, al menos con seis semanas de diferencia, detectados mediante una prueba inmunoabsorbente ligada a enzimas y estandarizada para detectar anticuerpos Anticardiolipina dependientes de  $\beta$ 2-glicoproteína I .
2. Presencia de anticoagulante lúpico en plasma en dos o más ocasiones, al menos con seis semanas de diferencia, detectado conforme a la guía establecida por la Internacional Society on Trombosis and Hemostasis (Scientific Subcomité on Lupus/Anticoagulants/Phospholipid-Dependent Antibodies en los siguientes pasos:
  - a) Coagulación retardada demostrada en una prueba de tamizaje dependiente de fosfolípidos; por ejemplo tiempo de tromboplastina parcial activado, tiempo de coagulación de caolín, tiempo de veneno de víbora de Russell diluido, tiempo de protrombina diluida, tiempo de Textarina.
  - b) Imposibilidad para corregir el tiempo de coagulación prolongado en la prueba de tamizaje al mezclarlo con plasma normal pobre en plaquetas.
  - c) Acortamiento o corrección del tiempo de coagulación prolongado en la prueba de tamizaje mediante la adición de exceso de fosfolípidos.
  - d) Exclusión de otras coagulopatías; por ejemplo inhibidor del factor VIII o heparina, cuando esté indicado.

Se considera síndrome antifosfolípido definido cuando se han reunido al menos 1 de los criterios clínicos y al menos 1 de los criterios de laboratorio.

---

& Tomados de Wilson WA (1999)..<sup>83</sup>

No se requiere de más exclusiones a las anotadas en los criterios. No obstante, dado que la probabilidad de trombosis puede ser multifactorial en los pacientes con síndrome antifosfolípido, se recomienda que: a) los pacientes sean evaluados para identificar otras causas de trombosis y b) los pacientes sean estratificados de acuerdo a un factor de riesgo identificable o probable, por ejemplo, edad. No se estableció ningún límite entre el intervalo del evento clínico y los hallazgos de laboratorio positivos. Sin embargo, se recomienda: a) evaluar la información de dichos intervalos cuando sea relevante y b) la definición relativamente estricta de los criterios de laboratorio (incluyendo la necesidad de que los resultados sean nuevamente positivos en pruebas repetidas al menos seis semanas después de la primera) puede ayudar a excluir positividad de anticuerpos antifosfolípido que solo representa un epifenómeno de los eventos clínicos.

Los criterios clínicos fueron elaborados principalmente por Branch y Silver<sup>13</sup>

### **Interpretación y comentarios**

Como se menciona en la tabla, se considera síndrome antifosfolípido definido cuando se han reunido al menos 1 de los criterios clínicos y al menos 1 de los criterios de laboratorio. Otros hallazgos del síndrome como trombocitopenia, anemia hemolítica, isquemia cerebral transitoria, mielitis transversa, livido reticularis, valvulopatía, síndrome semejante a esclerosis múltiple, corea y migraña, al igual que algunas alteraciones de laboratorio (anticuerpos anti  $\beta$ 2-glicoproteína I, anticuerpos a otros fosfolípidos, etc.) no fueron incluidas como criterios en virtud de no ser asociaciones con la suficiente fuerza como las incluidas como criterios y por requerir de mayores estudios para su estandarización, respectivamente. En dicho documento no se establecen diferencias si el síndrome es primario o secundario, ni se consideran las categorías de probable o posible, únicamente se contempla la categoría de definido.

Como ya se mencionó anteriormente el SAF secundario se asocia a LES, por tal motivo a continuación se presentan los criterios revisados para LES.(tabla 1)

**Tabla 1. Criterios Revisados 1982 y actualizados en 1997 para la clasificación del Lupus Eritematoso Generalizado.**

Tomado de Tan E. M <sup>79</sup>

CRITERIO	DEFINICIÓN	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
1. Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado sobre las eminencias malares con tendencia a respetar los pliegues nasogenianos.	57	96
2. Lupus discoide	Placas eritematosas elevadas con descamación queratósica adherente y taponeamiento folicular, en las lesiones más antiguas puede ocurrir cicatrización atrófica.	18	99
3. Fotosensibilidad	Erupción cutánea a consecuencia de una reacción poco común a la luz solar, por historia clínica u observación del médico.	43	96
4. Úlceras orales	Ulceración oral o nasofaríngea, usualmente indolora observada por un médico	27	96
5. Artritis	Artritis no erosiva que afecte 2 o más articulaciones periféricas, caracterizada por dolor a la presión, hinchazón o derrame.	86	37
6. Serositis	a) Pleuritis- historia convincente de dolor pleurítico o frote escuchado por un médico o evidencia de derrame pleural o	56	86
	b) Pericarditis, documentada por electrocardiograma o frote evidente de derrame pericárdico.		
7. Compromiso renal	a) Proteinuria persistente mayor de 0.5 g/día o mayor de 3+ si no se cuantifica o	51	94
	b) cilindros celulares, pueden ser de eritrocitos, hemoglobina, granulares, tubulares y mixtos.		
8. Compromiso neurológico	a) convulsiones en ausencia de medicamentos ofensivos o alteraciones metabólicas conocidas: ej. Uremia, cetoacidosis o desequilibrio hidroelectrolítico (DHE) o	20	98
	b) Psicosis- en ausencia de medicamentos ofensivos o alteraciones metabólicas conocidas. Ej. Uremia, cetoacidosis o DHE		
9. Compromiso hematológico	a) Anemia hemolítica- con reticulocitosis o	59	89

	b) Leucopenia, menor de 4,000 mm <sup>3</sup> en dos o más ocasiones.		
	c) Linfopenia, menor de 1,500 mm <sup>3</sup> en dos o más ocasiones.		
	d) Trombocitopenia, menor de 100,000 mm <sup>3</sup> en ausencia de medicamentos ofensivos		
10. Alteración inmunológica	a) Suprimido o		
	b) Anti DNA: anticuerpos anti DNA nativo a título normal o		
	c) Anti Sm: Presencia de anticuerpos al antígeno nuclear Sm o		
	d) Presencia de anticuerpos antifosfolípido basada en:		
	1) nivel anormal de anticuerpos anticardiolipina IgG e IgM;	85	93
	2) Prueba positiva de anticoagulante lúpico usando un procedimiento estandarizado o		
	3) Prueba serológica falsa positiva para sífilis durante al menos 6 meses y confirmada mediante prueba de inmovilización de <i>Treponema pallidum</i> o prueba de absorción de anticuerpos anti treponema fluorescente.		
11. Anticuerpos antinucleares	Un título anormal de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia o una prueba equivalente en cualquier momento y en ausencia de medicamentos conocidos que se asocian con el "síndrome de lupus inducido por fármacos"	99	49

**S**= Sensibilidad; **E**= especificidad; las cifras representan la sensibilidad y especificidad mostrada por el criterio en forma individual; cuando el criterio tiene más de una variable (ej. Serositis, alteración renal, alteración neurológica, etc.) La sensibilidad y especificidad señaladas representan los valores del conjunto.

### Interpretación y comentarios

Para fines de clasificación de pacientes en estudios clínicos, se dirá que una persona tiene LEG si presenta 4 o más de cualquiera de los 11 criterios, en forma seriada o simultáneamente, durante

cualquier intervalo de observación. La serie de criterios tiene 96% de sensibilidad y 96% de especificidad para LEG. La actualización del criterio 10 en los incisos a y d, formulada en 1997 ya está incluida. Finalmente, en fecha muy reciente se ha presentado la nueva nomenclatura de los síndromes neuropsiquiátricos del lupus eritematoso generalizado y en la cual se incluyen 19 síndromes, 12 de ellos como manifestaciones del sistema nervioso central y 7 como manifestaciones del sistema nervioso periférico, mismas que se ha sugerido agregarlas a las dos manifestaciones incluidas en el criterio 8, es decir, se agregan a la psicosis y convulsiones los 19 síndromes neuropsiquiátricos. Así se extiende oficialmente el espectro del compromiso neurológico, y puede decirse que un sujeto tiene un síndrome lúpico neuropsiquiátrico, si reúne la definición de caso de lupus neuropsiquiátrico y tiene además 3 o más de los criterios para la clasificación del lupus eritematoso generalizado.

## **VI. Tratamiento**

Hasta ahora no hay un esquema de tratamiento definido para los pacientes con SAF, pero se deben eliminar o controlar factores de riesgo, para ello se recomienda tomar bajas dosis de aspirina (81 mg/día) en caso de que no exista un embarazo y en aquellos pacientes que tengan trombosis deberán recibir warfarina<sup>31</sup>, (INR 2.0-3.0) para reducir el riesgo de trombosis, mientras que si existe trombosis se recomienda tomar aspirina (325 mg/día). Aún hay controversia sobre el tratamiento para mujeres embarazadas con o sin historial de pérdida fetal pero se recomienda tomar aspirina (81 mg/día antes de la concepción) o heparina de bajo peso molecular a dosis profiláctica<sup>3, 41</sup>. Por último, siempre se deberá tener especial atención en el desarrollo de osteoporosis en los pacientes tratados con heparina<sup>28</sup> pero en términos generales el riesgo de osteoporosis en los pacientes disminuye significativamente con la anticoagulación, se desconoce por cuánto tiempo debe recibir el tratamiento, pero probablemente sea necesario administrarlo de por vida<sup>28,31,72,43</sup>.

### **C) AGENTE.**

Es todo poder, principio o sustancia capaz de actuar en el organismo y será nocivo si su presencia da comienzo a una enfermedad.

Agentes biológicos: Pueden ser bacterias, virus, hongos, parásitos, y/o sus toxinas.

Agentes físicos: Cambios de temperatura, presión de gases o líquidos, efecto mecánico de objetos o instrumentos, electricidad y radiaciones

Agentes químicos: Fármacos (efectos secundarios), sustancias tóxicas (alcoholes, metales y sus sales, gases, insecticidas, venenos de plantas y animales).

Nutrientes: Una nutrición inadecuada puede provocar anemia hipocrómica, desnutrición o por el contrario, obesidad.

Los microorganismos están usualmente divididos en bacterias, virus y agentes protozoarios, como las amibas. Las bacterias y los protozoarios pueden vivir y multiplicarse fuera de otras células vivientes y pueden por lo tanto sobrevivir y multiplicarse por largos períodos de tiempo en los alimentos o en el agua mientras que haya suficientes nutrientes para ellos. Los virus, por otra parte, no pueden multiplicarse fuera de otras células vivientes. Para sustentar su ciclo de vida, los virus necesitan entrar en las células humanas o en la célula de un animal o insecto. Muchas enfermedades causadas por microorganismos son debidas a la transmisión directa de una persona a otra, pero éstas no están normalmente incluidas como peligros a la salud ambiental. Éstas incluyen todas las enfermedades transmitidas sexualmente y muchas de las enfermedades infecciosas de la niñez.<sup>86</sup>

## MICOPLASMAS.

Los micoplasmas son los microorganismos unicelulares más pequeños (300-800nm) capaces de dividirse y vivir en forma independiente, limitados solo por una membrana plasmática, su genoma es muy pequeño ya que varía de  $6 \times 10^5$  hasta  $1.8 \times 10^6$  pares de bases y se estima que posee unos 500 genes aproximadamente, y se sabe que tienen un bajo contenido de Guanina-Citocina. Los micoplasmas se encuentran dentro del reino Monera (procariota), división *Tenericutes*, clase *Mollicutes*, orden *Mycoplasmatales*, y familia *Mycoplasmataceae*, la cual comprende dos géneros *Mycoplasma* y *Ureaplasma*.<sup>67</sup>

La ausencia de pared celular les confiere diversas características tales como plasticidad y pleomorfismo, por lo que sus formas varían desde la esférica u ovoide hasta la filamentosa. Presentan una extrema sensibilidad a la lisis por choque osmótico, también a los detergentes, alcohol, anticuerpos específicos más complemento y resistencia a los antibióticos que actúan a nivel de pared celular. Su estructura celular contiene un número mínimo de sistemas enzimáticos necesarios para su crecimiento y desarrollo, por lo cual son considerados como microorganismos "fastidiosos" ya que requieren de medios complejos necesarios para su aislamiento, los cuales deben contener azúcares, arginina o urea como principal fuente de energía, además es indispensable la adición de esteroides, lipoproteínas y ácidos grasos para su crecimiento y síntesis de la membrana.<sup>67</sup>

Se han descrito más de 180 especies en la clase Mollicutes, incluyendo 92 especies del género micoplasma en humanos, mamíferos, aves, reptiles y peces. Algunos micoplasmas que se presentan en animales han sido aislados de humanos en pocas ocasiones, sin embargo estos reportes han representado problemas significativos.<sup>69</sup>

Entre 1948 y 1965 se aislaron varias cepas de micoplasmas del tracto urogenital y tejido sinovial humano. De los micoplasmas que se han encontrado en el humano destacan: *Mycoplasma salivarium*, *Mycoplasma orale*, *Mycoplasma buccale*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma pirum*, *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma penetrans*, entre otros<sup>69</sup>; tienen como sitios de colonización primario la orofaringe y el tracto genitourinario. Sin embargo, se ha observado que pueden tener un sitio secundario de colonización como la vagina, cervix, articulaciones artríticas, nódulos linfáticos, abscesos de tubo ovárico, sangre, riñón, cerebro, uretra, fluido amniótico, septicemia neonatal, y linfocitos de sangre de pacientes con SIDA.<sup>69</sup>

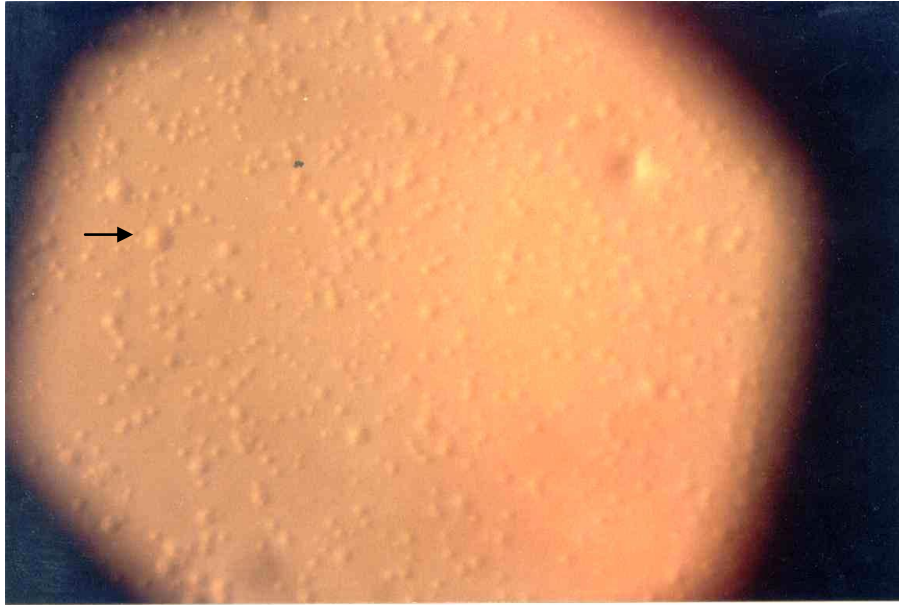


Figura 2. Crecimiento de colonias de *Mycoplasma fermentans* en agar Eaton. Se aprecian las colonias con la forma característica de “huevo frito”<sup>69</sup>

### **Micoplasmas de interés médico**

Los micoplasmas son bacterias pequeñas que se auto replican, poseen mecanismos para evadir la respuesta inmunitaria del hospedero y se caracterizan principalmente porque carecen de pared celular. Muchos dependen de la adhesión a las células huésped para colonizar e infectar y se cree que para ello es necesaria la participación de una proteína llamada p30, ya que en experimentos con mutantes carentes de p30 se ha observado que no hay virulencia<sup>67,74</sup>.

Las especies de micoplasmas que frecuentemente se aíslan del humano muestran una preferencia por determinados tejidos o fluidos como sitios primarios de colonización y fuentes nutricionales específicas (Tabla 2).



Tabla 2. Comparación de sitio anatómico primario de colonización y sustrato metabólico que requieren las especies de micoplasmas de interés médico.<sup>69</sup>

Especie	Sitio primario de colonización		Sustrato metabólico		
	Orofaringe	Tracto genitourinario	Glucosa	Arginina	Urea
<i>M. salivarium</i>	+	-	-	+	-
<i>M. orale</i>	+	-	-	+	-
<i>M. buccale</i>	+	-	-	+	-
<i>M. faucium</i>	+	-	-	+	-
<i>M. lipophilum</i>	+	-	-	+	-
<i>M. pneumoniae</i>	+	-	+	-	-
<i>M. hominis</i>	+	+	-	+	-
<i>M. espermatophilum</i>	-	+	-	+	-
<i>M. genitalium</i>	+	+	+	-	-
<i>M. fermentans</i>	+	+	+	+	-
<i>M. penetrans</i>	-	+	+	+	-
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	+	+	-	-	+

### Factores de virulencia de los Micoplasmas

El potencial adaptativo de las bacterias patógenas es puesto a prueba por los mecanismos de defensa del hospedero, por tanto los microorganismos pueden responder a su entorno gracias a sus características moleculares de infección como son la adherencia, replicación dentro del hospedero, mimetismo antigénico, supervivencia dentro de las células fagocíticas o generando plasticidad fenotípica<sup>12,16</sup>. Los micoplasmas son capaces de producir factores quimiotácticos, receptores y proteasas, mismos que están involucrados en el desarrollo de las lesiones y/o en la sobrevivencia del microorganismo<sup>67,74</sup>.

El glicofosfolípido (GLP-III) de *M. fermentans* es un antígeno importante que ha sido encontrado en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) <sup>55</sup>. Otras moléculas denominadas lipoproteínas de membrana (LAMP-2) de *M. fermentans* inducen la secreción de interleucina 1-beta y factor de necrosis tumoral (FNT $\alpha$ ) en macrófagos de humano, siendo estos eventos cruciales en la expresión de citocinas pro inflamatorias <sup>70</sup>. También se ha reportado otra proteína en *M. fermentans*, con actividad inmunomoduladora capaz de inducir la diferenciación y apoptosis celular llamada p48 <sup>40</sup>. Por otro lado *M. penetrans* posee un mecanismo de infección único ya que puede penetrar al interior celular donde se replica y forma colonias. Para realizar esto, *M. penetrans* depende de la capacidad de la célula huésped para formar filamentos de actina, lo cual se ha comprobado con el uso de fármacos y también de la actividad de fosfolipasas propia que permite la digestión de los fosfolípidos en la membrana del huésped <sup>38,77</sup>.

### **Interacción de los micoplasmas con el sistema inmunitario del hospedero**

Los micoplasmas han desarrollado mecanismos que generan variabilidad en los antígenos de superficie que parece estar involucrada con su capacidad para evadir el sistema inmunitario <sup>21</sup>. Existen diversos mecanismos a través de los cuales los micoplasmas evaden la respuesta inmunitaria, uno de ellos es por la reducción de arginina disponible mediante el sistema arginina deshidrolasa, debido a que este aminoácido puede modular la respuesta inmunitaria porque a partir de ella se genera óxido nítrico que dispara la respuesta inflamatoria <sup>30,57</sup>. El segundo mecanismo es por toxicidad hacia células linfoides y consiste en la producción de una proteína de 15 a 30 kDa que provoca la ruptura del DNA nucleosomal y cromatídico, favoreciendo así a la apoptosis y la desregulación de citocinas <sup>30</sup>.

## ANTECEDENTES ESPECÍFICOS.

**MICOPLASMAS Y SÍNDROME DE ANTICUERPOS ANTIFOSFOLÍPIDOS.** *Mycoplasma penetrans* es una bacteria reportada frecuentemente en pacientes portadores de VIH <sup>7</sup>. En 1999 Yáñez y Cols <sup>85</sup> reportan una paciente con bacteremia por *M. penetrans*, la paciente fue negativa a VIH. Posteriormente en el 2003 Herrera y cols. presentan un trabajo de maestría donde se determinó la presencia anticuerpos contra *Mycoplasma penetrans* en pacientes con Síndrome antifosfolípido y en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico.<sup>44</sup>

Se ha comprobado que el desarrollo del SAF está asociado a infecciones con bacterias <sup>17,21</sup> y que el mimetismo molecular que realizan algunas de ellas durante la infección puede ocasionar SAF catastrófico <sup>8</sup>.

Otras infecciones poco frecuentes por ejemplo, bacterias del género *Mycoplasma* están asociadas al SAF <sup>17,22</sup>, dichas bacterias son de importancia médica por la capacidad que tienen para evadir la respuesta inmunitaria del hospedero <sup>18,67</sup>. Existen diversos reportes que asocian la infección por bacterias del tipo de los micoplasmas con enfermedades reumáticas como artritis reumatoide <sup>69,70</sup> y que además es coadyuvante en otras patologías como el SIDA, enfermedad de Crohn, abortos espontáneos, asma y neumonía. Se han observado casos en los que la infección por *M pneumoniae* y *M penetrans* está asociada a la presencia de anticuerpos antifosfolípidos <sup>28,38,44,84</sup>. Finalmente, la infección causada por *M penetrans* se considera como una enfermedad emergente <sup>38</sup> y dado a que posee características únicas de infección como penetrar las células de su hospedero y evadir la respuesta inmunitaria <sup>67</sup> es necesario realizar estudios para mitigar su incidencia en la población.

Se han encontrado varios casos en los que el SAF está asociado a la infección por micoplasmas <sup>17,28,85</sup>, en un estudio se observó que más del 50% de pacientes infectados con *Mycoplasma pneumoniae* presentaban anticuerpos anticardiolipina del tipo IgM e IgG fuera del rango normal que generalmente están asociados a trombosis y otras complicaciones de LES <sup>79</sup>.

Recientemente se encontró un caso de una paciente de siete años que presentaba una alta cantidad de anticuerpos IgM (4.5 RU/mL) e IgG (156.9 RU/mL) relacionados a infección por *M. pneumoniae*, la enfermedad derivó en oclusión arterial cerebral pero la paciente logró recuperarse en cuatro semanas después del tratamiento <sup>80</sup>. Hasta el momento solo existe un reporte de la asociación entre *M. penetrans* y SAF en una paciente no infectada por VIH, en donde se logró aislar a la bacteria a partir de muestras de sangre y garganta, confirmando la existencia de

anticuerpos dirigidos contra la proteína p53 que produce en su membrana mediante ensayos de ELISA y cuya presencia ha sido muy útil para su detección serológica por inmunoensayos<sup>85</sup>.

## **RELACIÓN MICOPLASMAS-MEDIO AMBIENTE**

Los factores ambientales bióticos y abióticos influyen de manera determinante sobre la salud. Se puede distinguir entre los factores naturales como la temperatura, humedad, geografía o vegetación. Los factores antropogénicos que afectan el medio como calidad del aire, el agua o suelo y los sociales como condiciones de vivienda, lugar de trabajo, la comunidad o de salud social, todos ellos interactúan de manera dinámica y por lo tanto pueden favorecer la aparición de enfermedades infecciosas o no infecciosas<sup>73</sup>. Una de las características del sitio donde fue reportado el caso de Yáñez y colaboradores<sup>85</sup> es la contaminación de dos ríos en el área de incidencia, lo cual es importante porque probablemente estos sitios contribuyan directa o indirectamente a la persistencia de la enfermedad, aunque a la fecha esto no se ha investigado. En otro estudio se demostró la presencia de *M. gallisepticum* en varias de las muestras tomadas de una granja de aves desinfectada y de manera interesante también se encontraron resultados positivos para la presencia de la bacteria aún después de 17 días de haber retirado a las aves indicando su capacidad de diseminación<sup>53</sup>. Por otro lado se sabe que algunas especies de micoplasmas pueden transmitirse de manera horizontal entre animales y humanos, por ejemplo se reportó un caso de dos niños infectados con *M. pneumoniae* proveniente de hámsters que tenían como mascotas<sup>35,56</sup> demostrando que estas bacterias pueden persistir en el ambiente ya que ambos pueden servir como reservorio.

Con el reporte de Yáñez<sup>85</sup> siempre se tuvo la sospecha de que un factor ambiental en la localidad de Miraflores Edo. de México contribuyó a la diseminación del microorganismo, motivo por el cual se decidió muestrear la zona en busca del mismo.

### **SAN MATEO TEZOQUIPAN MIRAFLORES, CHALCO, EDO. DE MÉXICO.**

El Municipio de Chalco Estado de México Ubicado al oriente del Estado de México. Tiene como cabecera la ciudad de Chalco, limitando con los municipios Ixtapaluca, Cocotitlán, Temamatla, Tenango del Aire, Tlalmanalco, Juchitepec, Valle de Chalco Solidaridad y el Distrito Federal.<sup>47</sup>

Posee tres tipos de relieve orográfico, valles, montañas y pequeños altiplanos.

Existen dos ríos que atraviesan el municipio que son: El río Asunción y el río Ameca siendo en la actualidad vías de drenaje a cielo abierto lo que los convierte en foco de deterioro ambiental.<sup>47</sup>



A)



B)

Fig. 3. Ríos que atraviesan el municipio de San Mateo Tezoquipan Miraflores, Chalco, Edo. de México. A) Río Asunción. B) Río Ameca. Tomado de INEGI 2013<sup>47</sup>.

También se reporta la presencia de pozos profundos de agua potable.

El Pueblo de San Mateo Tezoquipan Miraflores se localiza en el municipio Chalco, a una altitud media de 2,306 m.s.n.m. Cuenta con una población total de 9,904 habitantes, de los cuales 5,126 son mujeres y 4,778 hombres. Cuenta con un total aproximado de 2,467 viviendas. Presenta un clima subhúmedo con temperatura anual promedio de 15.6 °C y en verano de 31 °C, actualmente con escasa vegetación debido a que está altamente urbanizado y solo hay pequeñas áreas de cultivo, pero unas de las características de importancia para este trabajo es la presencia de dos ríos uno al norte y otro al sur del municipio ambos con un alto grado de contaminación (figura 4).<sup>47</sup>



Figura 4. Imagen de la localidad de San Mateo Tezoquipan Miraflores. Tomado de INEGI 2013.



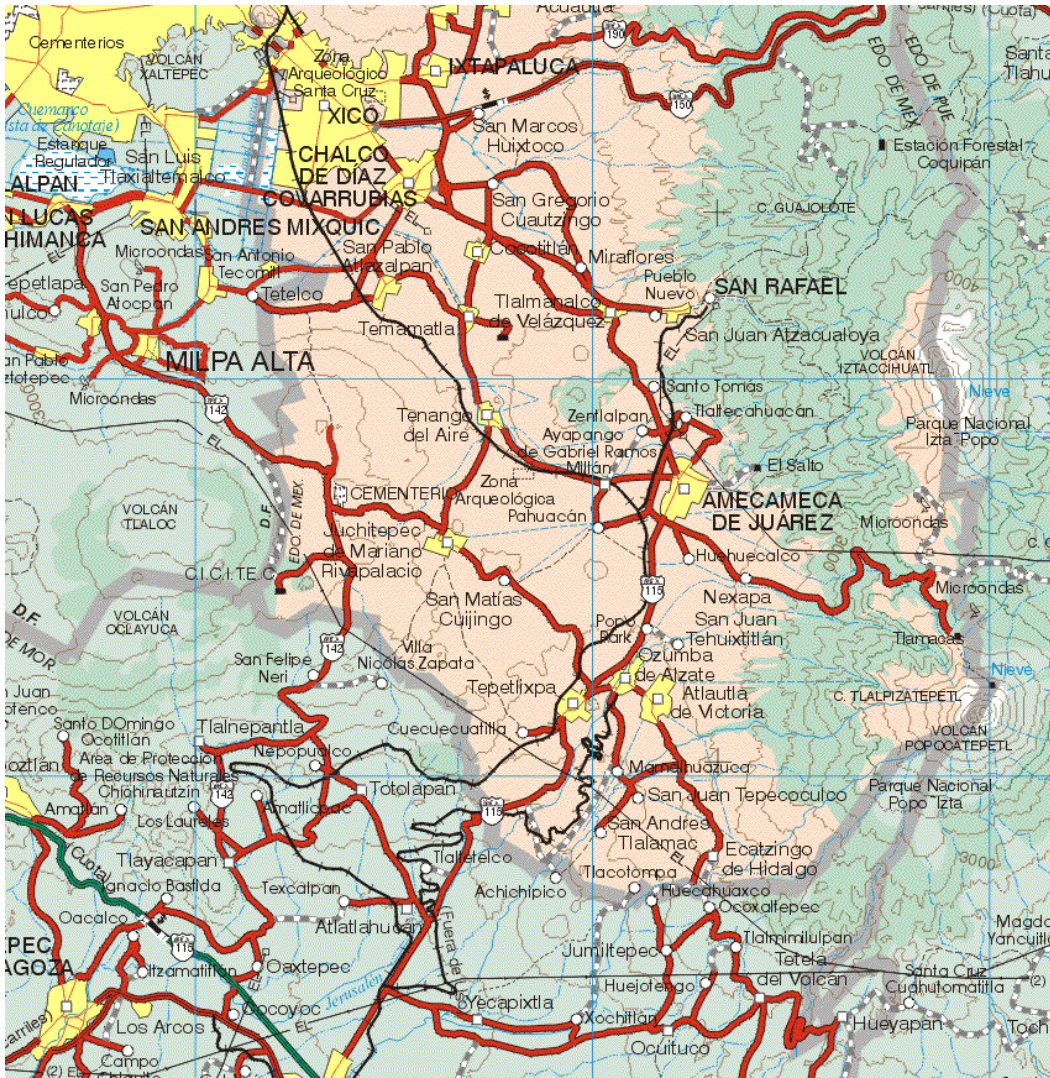


Figura 5. Localización geográfica de la localidad de San Mateo Tezoquipan Miraflores, Chalco, Estado de México. Fuente: INEGI 2013

## JUSTIFICACIÓN

Comúnmente las enfermedades de tipo autoinmunes son de origen multifactorial, inducidas por la interacción de la triada ecológica, pero una vez presentes, no se ha estudiado el papel que juega cada componente de la misma, siendo éste último el aporte principal de este trabajo.

En nuestro país no existen trabajos que aborden al SAF desde una perspectiva ambiental. Está demostrado que el considerar a los componentes ambientales dentro del proceso salud-enfermedad contribuye para la elaboración de estrategias de control, permitiendo un mayor alcance sobre la población. Este trabajo pretende analizar los componentes que influyen en el SAF en pacientes infectadas con *M. penetrans* aplicando el modelo de la triada ecológica. Por otro lado, se desconocen los factores que funcionan como fuente primaria de infección de *M. penetrans* y dado que existen casos en otras especies de micoplasmas con reservorios diferentes al humano y transmisión horizontal, por tal motivo es necesario evaluar la presencia de sitios que funcionen como posibles reservorios con los cuales las pacientes de este estudio tienen mayor contacto.

Dado que las enfermedades autoinmunes son de tipo multifactorial donde la interacción del microorganismo, hospedero y medio ambiente dificulta el conocer el papel que juega cada uno, por ello este trabajo fue separando cada componente y eliminando alguno de ellos, para saber que pasaba con la enfermedad. Por tal motivo en la triada ecológica el componente que decidimos abordar fue al microorganismo dado que su papel era el más fácil de dilucidar, esto desde un punto de vista de que se puede combatir con antibióticos y ver que pasa en el curso de la enfermedad; y posteriormente abordamos el efecto del medio ambiente, que es lo que se pretendió al tratar de buscar el factor que pudiera estar involucrado en el medio ambiente de Miraflores, Edo. de México.



En base a lo anterior surge la siguiente

**HIPÓTESIS:** Los componentes de la triada ecológica no solamente inducen la enfermedad sino que pueden alterar el curso de la misma.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Analizar los componentes de la triada ecológica (medio ambiente, hospedero y microorganismo) que pudieran modificar el curso del Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípidos.

### **Objetivos específicos**

#### *RELACIONADOS CON EL MICROORGANISMO:*

1. Determinar si el empleo del antimicrobiano contra micoplasma modifica el curso clínico de la enfermedad.
2. Analizar mediante microscopía electrónica de barrido los cultivos de las muestras obtenidas del ambiente de la localidad de Miraflores Estado de México.

#### *RELACIONADOS CON EL HOSPEDERO:*

3. Saber si existe una correlación entre el curso de la enfermedad y los resultados serológicos en las pacientes portadoras de SAF y micoplasmas.

#### *RELACIONADOS CON EL MEDIO AMBIENTE:*

4. Comparar los factores ambientales del macro ambiente que prevalecen en el hogar y sitio de trabajo de pacientes con SAF y pacientes con otros padecimientos reumáticos.
5. Indagar la presencia de micoplasmas en la localidad de Miraflores Estado de México.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **Diseño experimental y estrategias de trabajo**

Este trabajo tiene características de tipo Transversal, prospectivo, comparativo, unicéntrico, ambilectivo, y homodémico. Se realizó en el Servicio de Reumatología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional "Gral. Manuel Ávila Camacho" (IMSS "San José") durante 12 meses (Octubre 2002-Octubre 2003). Se seleccionó a **37 pacientes** del sexo femenino de las cuales **15 presentaron síntomas y signos sugestivos de SAF y 22 de LES** con el **antecedente de ser portadoras de micoplasmas en un estudio previo.**

Solo se incluyó a 37 pacientes derechohabientes que acudieron al servicio de Reumatología y que previamente fueron diagnosticados según los criterios internacionales para SAF y/o LES además de ser portadoras de micoplasmas. Se excluyó de este estudio a pacientes con SAF o LES portadoras de micoplasmas que no aceptaron participar en el estudio, aquellas que fueron alérgicas a claritromicina o que presentaran SAF o LES pero que no fueran portadoras de micoplasmas en sangre. Se entregó una carta de consentimiento informado a aquellas pacientes que cumplieron con los requisitos de inclusión. Posteriormente se les administró claritromicina (50 mg/día) por 10 días durante un periodo de tres meses. Después de concluido el tratamiento se les realizó una nueva toma de sangre para su cultivo y procesamiento en búsqueda de micoplasmas. Los datos recolectados de los expedientes clínicos incluyeron: fecha de diagnóstico, tratamiento inicial, modificaciones del mismo en el curso de los años y los resultados más representativos de los estudios de laboratorio que se les realizaron.

De acuerdo al modelo de la triada ecológica las variables **relacionadas con el hospedero** fueron: eventos vasculares cerebrales, eventos trombóticos, presencia de micoplasmas en sangre, y polifarmacia. Los factores **relacionados con el medio ambiente** fueron el sitio de trabajo, de residencia, convivencia con animales domésticos, aves de ornato o de corral, contacto con sitios contaminados tales como ríos o tiraderos de basura, y finalmente el uso de insecticidas. La variable **relacionada con el microorganismo** fue la presencia del mismo en las pacientes. Todas ellas medidas mediante una escala de medición binaria.

## Aislamiento e identificación de micoplasmas

Se obtuvieron muestras de suero y plasma de las pacientes por punción de vena periférica, posteriormente se hizo un cultivo bacteriano en caldo SP4. De cada dilución ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) se tomaron muestras de 100  $\mu$ l para sembrar en gelosa E, incubando a 37 °C en espera del vire del indicador en caldo y del crecimiento en placa de las colonias típicas de micoplasmas que fueron observadas en microscopio estereoscópico. Aquellos medios de cultivo donde se observó vire del indicador fueron resembrados en placa y en los que no se observó el vire se les realizó pase ciego al caldo correspondiente. Los cultivos que resultaron positivos se utilizaron como fuente para la extracción de DNA, se tomaron 500  $\mu$ l de cada cultivo y se depositaron en tubos Ependorff para centrifugar a 15000 rpm durante 15 minutos a 4 °C. Después de descartar el sobrenadante se adicionaron 100 $\mu$ l de solución A (Tris-HCl 10 mM pH 8.3, KCl 100 mM, MgCl<sub>2</sub> 2.5mM) + 100 $\mu$ l de solución B (Tris HCl 10 mM pH 8.3, MgCl<sub>2</sub> 2.5 mM, Tween 20 al 1%, proteinasa K 0.5 mg/ml). Luego se incubaron los tubos durante una hora a 60 °C y después se colocaron a baño maría durante 10 minutos. Finalmente, las muestras se incubaron en hielo durante 10 minutos y después se guardaron a -20 °C hasta su procesamiento.

Se hizo un paso de amplificación de la muestra de DNA obtenida utilizando los iniciadores AR1 y AR2 para obtener un fragmento de 301 pb que es la secuencia conservada en 30 especies de micoplasmas. La secuencia de cada uno de los iniciadores es: a) AR1: 5´ ATG RGG RTG CGG CGT ATT AG 3´ y b) AR2: 5´ CKG CTG GCA CAT AGT TAG CCRT 3´, donde K representa una mezcla de los nucleótidos G-T y R contiene A-G. La amplificación de los fragmentos se realizó en un termociclador programable (Mini Cycler MJ Research, Inc. Watertown. M.A., USA) con una mezcla de reacción que contenía 10 mM de TrisHCl (pH 8.5), 200  $\mu$ M de cada dNTP's, 50 mM de KCl, 3.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 2.5 U de *Taq* polimerasa, 0.3  $\mu$ M de cada iniciador (Gibco BRL), 4% de dimetilsulfoxido, 5  $\mu$ l de la muestra y una gota de aceite mineral estéril, para un volumen final de 50  $\mu$ l. Se programaron 40 ciclos bajo las siguientes condiciones: desnaturalización a 94 °C durante un minuto, alineamiento a 50 °C un minuto y polimerización a 72 °C por 1 minuto y extensión a 72 °C durante 5 minutos.

Para comprobar la amplificación se preparó un gel al 2% colocando 8 $\mu$ l de cada uno de los productos amplificados y más 2 $\mu$ l de azul de bromofenol. La separación electroforética se realizó a 70 volts durante 1.5 horas, posteriormente fue teñido con una solución de bromuro de etidio (10 mg/ml), y los resultados se observaron con una lámpara de luz ultravioleta.

Se realizó un muestreo de suelo y agua en la localidad de Miraflores municipio de Chalco en el estado de México para averiguar la presencia de micoplasma en el ambiente. Para ello se colectaron muestras de heces de paloma, heces de gallina, agua del río colindante, tierra de jardín y tierra de los gallineros para posteriormente realizar un cultivo y detectar la presencia de micoplasmas, siguiendo el procedimiento mencionado anteriormente. Las muestras obtenidas fueron esterilizadas por filtración y posteriormente sembradas en caldo SP4, de igual manera que con las muestras de suero y plasma de cada dilución ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) se tomaron muestras de 100  $\mu$ l para sembrar en gelosa E, incubando a 37 °C en espera del vire del indicador en caldo y del crecimiento en placa de las colonias típicas de micoplasmas, las cuales se observaron en microscopio estereoscópico. Los medios de cultivo en caldo que viraron fueron resembrados en placa y a los que no viraron se les realizó pase ciego al caldo correspondiente.

### **MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.**

Se colocaron 5 microlitros de caldo de cultivo positivo al crecimiento de micoplasmas en una laminilla de cristal, se fijó la muestra con citospray para su posterior análisis por microscopía electrónica de barrido. Se formó una película de oro con evaporador térmico en un evaporador convencional. Se colocaron las muestras al microscopio electrónico de barrido que opera en alto vacío ( $10^{-4}$  TORS) y se procedió a su visualización.

### **Análisis de datos**

Se analizaron los datos de manera cualitativa para establecer la presencia o ausencia de micoplasmas en la sangre de pacientes portadoras de SAF y/o LES posterior a la administración de claritromicina. Al mismo tiempo se analizaron los resultados en las muestras obtenidas del ambiente de la localidad de Miraflores Edo. De México para establecer la presencia o ausencia de micoplasmas. Los resultados del tratamiento así como los componentes de la triada ecológica se presentan a continuación.

## RESULTADOS

### A) RELACIONADOS CON EL HOSPEDERO:

Las pacientes con SAF además de los signos y síntomas que en sí son graves, se enfrentan a complicaciones derivadas de su enfermedad, tales como enfermedades vasculares, las cuales por su naturaleza son graves y es muy importante en este tipo de pacientes el prevenir que se presente alguna de estas complicaciones ya que en algunos casos puede ser mortal, pues aún cuando los fármacos actuales han mejorado su calidad de vida, sin embargo siempre está latente la posibilidad de que se presente una complicación.

Es importante mencionar que los criterios para considerar a una paciente como portadora de micoplasmas fueron los cultivos positivos con la presencia de crecimiento de micoplasmas en placa y el vire del indicador en el caldo de cultivo.

La edad promedio de las pacientes estudiadas fue de 33.8 años.

### SAF.

De acuerdo a los registros obtenidos se observó que en las 15 pacientes portadoras de SAF el 33.3% de las pacientes habían presentado abortos, el 20% cursado con eventos vasculares cerebrales (EVC) y el 13% con trombo embolia pulmonar (TEP), mientras que el 6.6% había tenido infarto agudo al miocardio (IAM) y también un 6.6% trombosis venosa periférica de miembros pélvicos (TVPMP). (Figura 6).

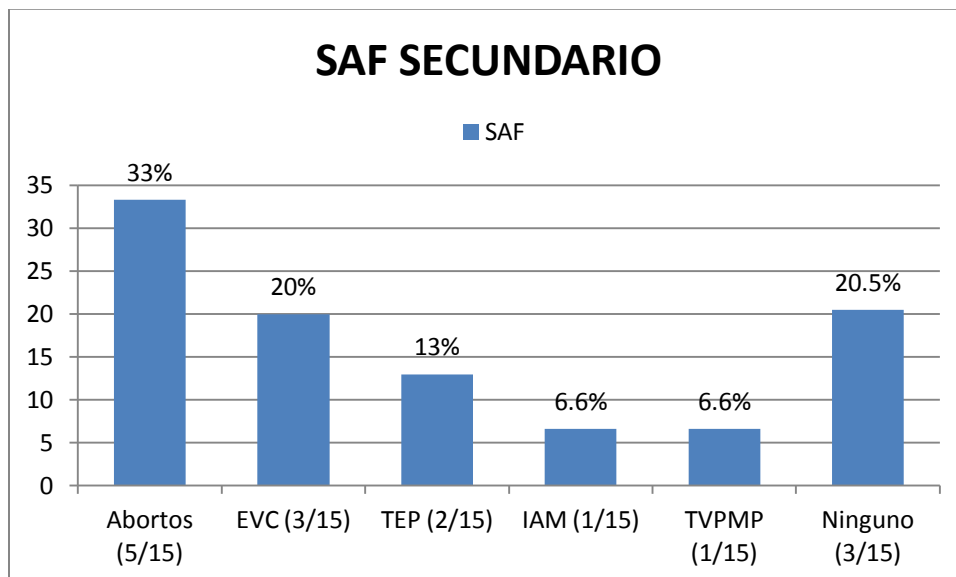


Figura 6. PRESENCIA DE EVENTOS VASCULARES EN PACIENTES CON SAF SECUNDARIO.

Fuente: Expedientes clínicos IMSS.

LES.

Las 22 pacientes estudiadas llevan cursando la enfermedad 10.3 años en promedio de las cuales solo el 13.6% ha cursado con abortos, el 4.5% cursó en algún momento con TEP y no se encontraron casos con EVC, IAM y/o TVP. (Figura 7).

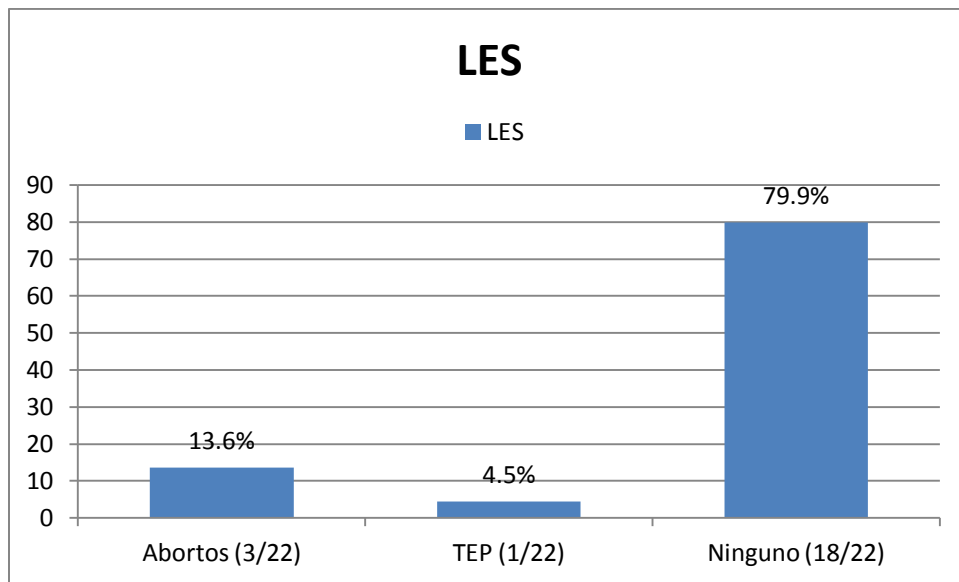


FIGURA 7. PREVALENCIA DE EVENTOS VASCULARES EN LAS PACIENTES CON LES.

Fuente: Expedientes clínicos IMSS.

### Esquemas de tratamiento.

Previo a la toma de muestra las pacientes cursaban con esquemas de tratamiento establecido por el servicio de reumatología, de las cuales: El 80% de las pacientes con SAF tomaba prednisona (PDN), mientras que solo el 33% tomaba antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y el 13.3% con antibiótico al momento de la toma de muestra. En el 40% de las pacientes tenía tratamiento con anticoagulante mientras que en el 13.3% tomaba fármacos inmunosupresores del tipo de la ciclofosfamida y cloroquina. Las pacientes bajo el uso de prednisona (PDN) suman el 68.18%, mientras que las que toman AINE son solo el 40.9%. El uso de anticoagulantes no es común en este tipo de pacientes, por lo que solo el 4.54% los tiene indicados, pero esto contrasta con el porcentaje de pacientes sometida a inmunosupresión (27.27%) (Figura 8).

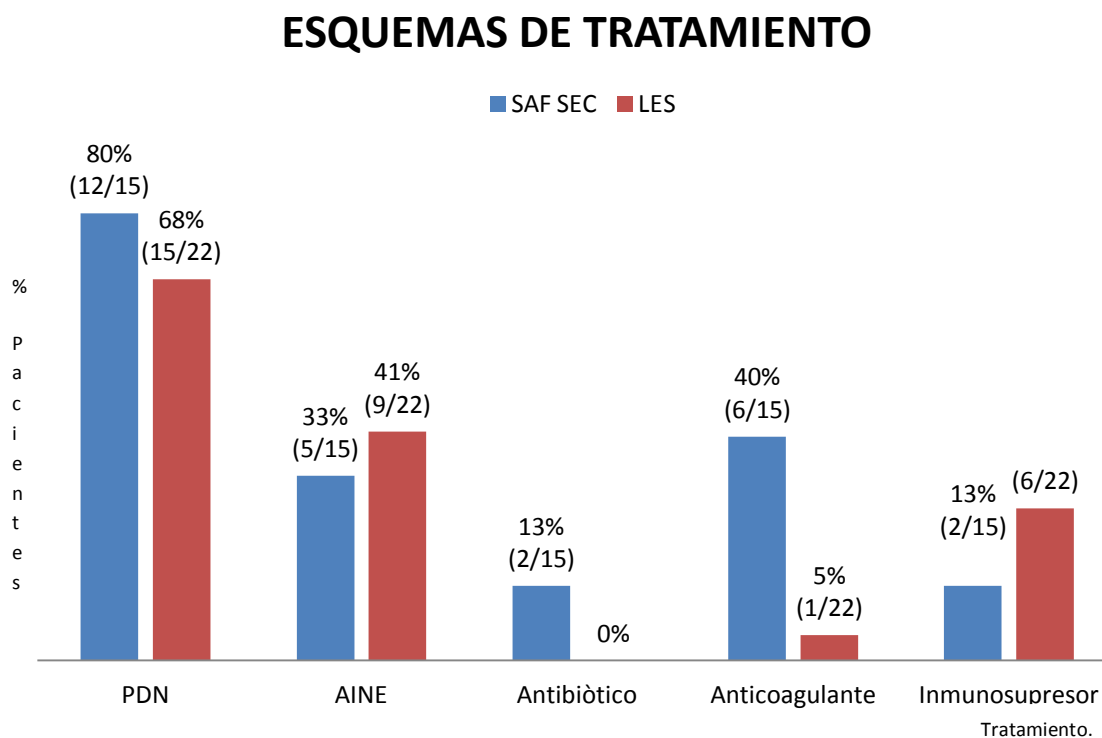


FIGURA 8.. ESQUEMAS DE TRATAMIENTO EN LAS PACIENTES CON SAF SECUNDARIO Y LES.

PDN: prednisona, AINE: Antiinflamatorio no esteroideo.

Fuente. Expedientes clínicos IMSS.

### Detección de micoplasmas por cultivo EN MUESTRAS DE SANGRE DE PACIENTES.

En los análisis microbiológicos se observó crecimiento de micoplasmas en placa tanto en las muestras provenientes del suero (53.3%) como en el plasma (80%) y en cuanto a cultivo en caldo se observó vire del indicador en el 20% de las muestras de suero y en el 80% de plasma. Se observó crecimiento de micoplasmas en el 59% de las muestras de suero y en el 68.18% de las muestras de plasma que se obtuvieron de pacientes con LES. Cuando se analizó el cultivo en caldo se observó vire del indicador en el 13.6% de las muestras de suero y en 81.8% de las muestras de plasma. (Figura 9).

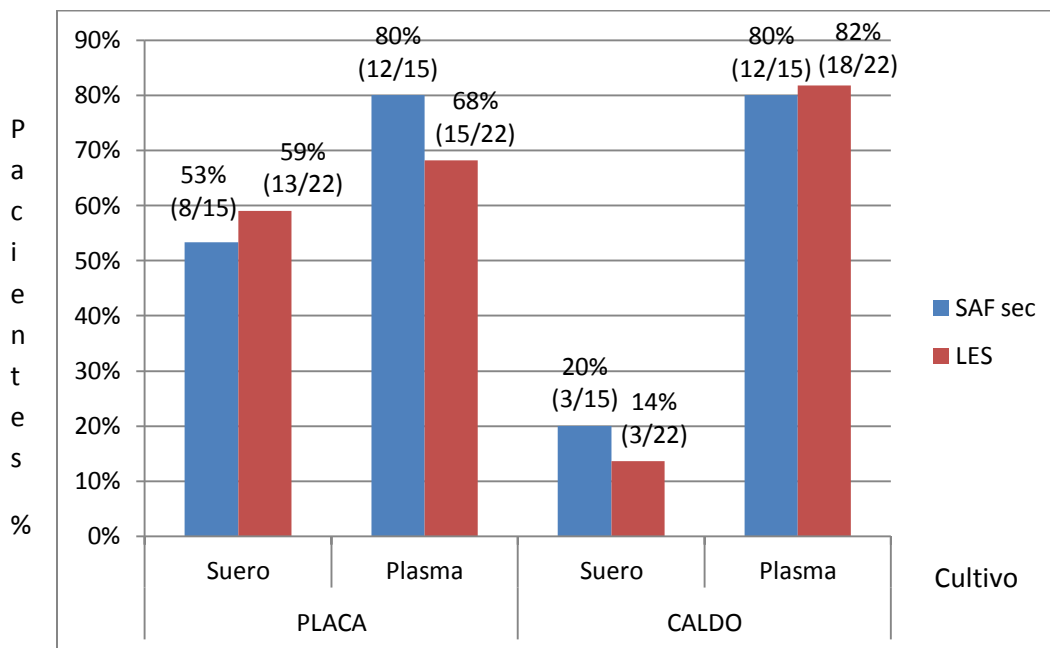


Figura 9. CRECIMIENTO DE MICOPLASMAS EN PACIENTES CON SAF Y LES.

Después de analizar las muestras, el crecimiento de micoplasmas se observó en pacientes con PREDNISONA en el 69% de las pacientes con SAF y el 69% de las pacientes con LES.

En tratamiento con AINE las pacientes cuyas muestras presentaron con crecimiento de micoplasmas fueron el 38% de pacientes con SAF y 50% con LES.



De las pacientes en tratamiento con ANTIBIÓTICO se observó crecimiento de micoplasmas en el 8% de pacientes con SAF y 0% en las pacientes con LES. (Fig. 10)

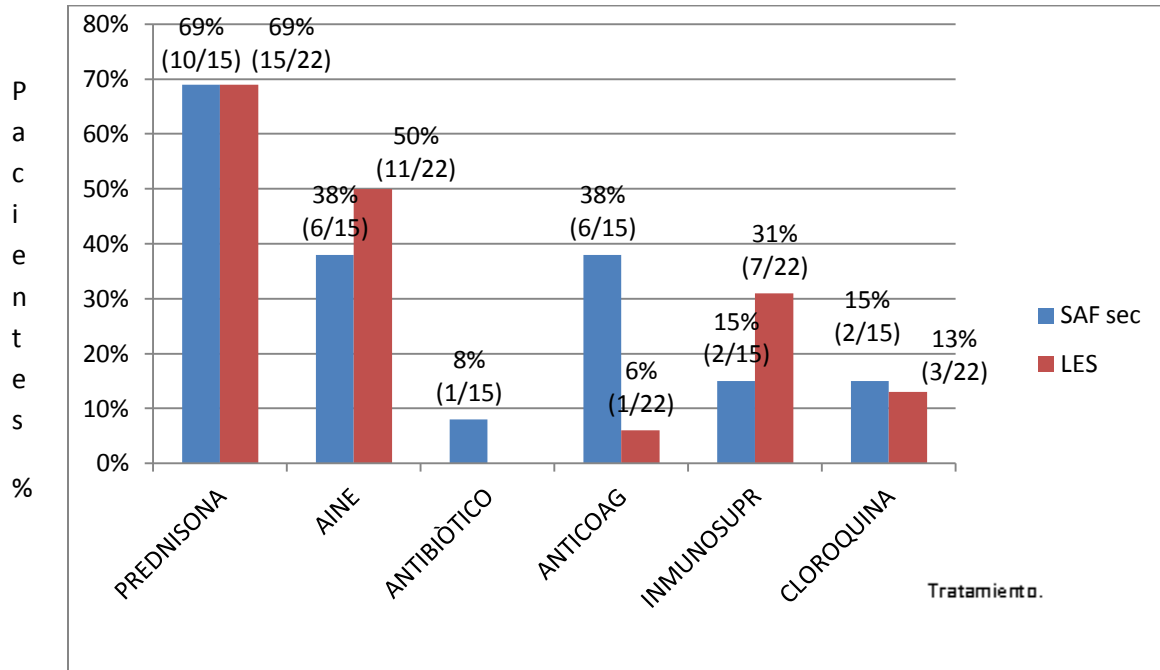


FIGURA 10. CRECIMIENTO DE MICOPLASMAS EN PACIENTES CON DIFERENTES ESQUEMAS DE TRATAMIENTO.

AINE: Antiinflamatorio no esteroideo, ANTICOAG: Anticoagulante, INMUNOSUPR: Inmunosupresor

**Detección de micoplasmas por PCR:** Se realizó un análisis mediante PCR a los cultivos de las pacientes y del grupo control de las muestras obtenidas posterior a la toma de antibiótico específico contra micoplasma (Clarithromicina), resultando negativo para la presencia de *Mycoplasma sp*, con ello se muestra la negativización de micoplasmas en la sangre periférica de las pacientes posterior a la administración del antibiótico.

## **B) RELACIONADOS CON EL MICROORGANISMO**

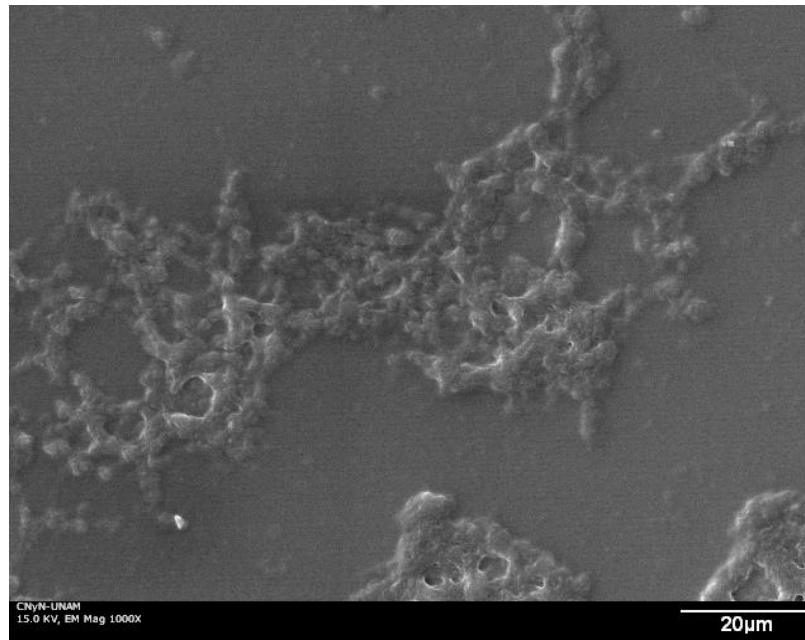
Respecto a las muestras obtenidas de la localidad de Miraflores, se cultivaron muestras obtenidas de tierra de gallinero, tierra de rosas y heces de paloma reportando en todas ellas un crecimiento positivo de micoplasmas, sin embargo en el análisis posterior mediante PCR dichos micoplasmas no fueron identificados como micoplasmas de interés médico.

### **SEM:**

Poco se sabe acerca de la patogénesis de las enfermedades causadas por micoplasmas, y el análisis de los cultivos de las pacientes mediante microscopía electrónica de barrido nos reporta la presencia de zinc, lo cual sugiere probables mecanismos de patogenicidad involucrados con la enfermedad.

### **MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (SEM).**

Las muestras de micoplasmas obtenidas del cultivo positivo en caldo de las pacientes y una muestra de cepa control GTU fueron procesadas para su observación mediante microscopía electrónica de barrido, donde además mediante espectrometría de energía dispersa (EDS) (incluida en el microscopio electrónico de barrido) se observó un alto contenido en zinc en las bacterias, hallazgo que aún no ha sido reportado en la literatura científica.



**FIGURA 11. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DONDE SE MUESTRA LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS DE MICOPLASMAS OBTENIDOS DEL CULTIVO EN PLACA DE SANGRE DE LAS PACIENTES.**

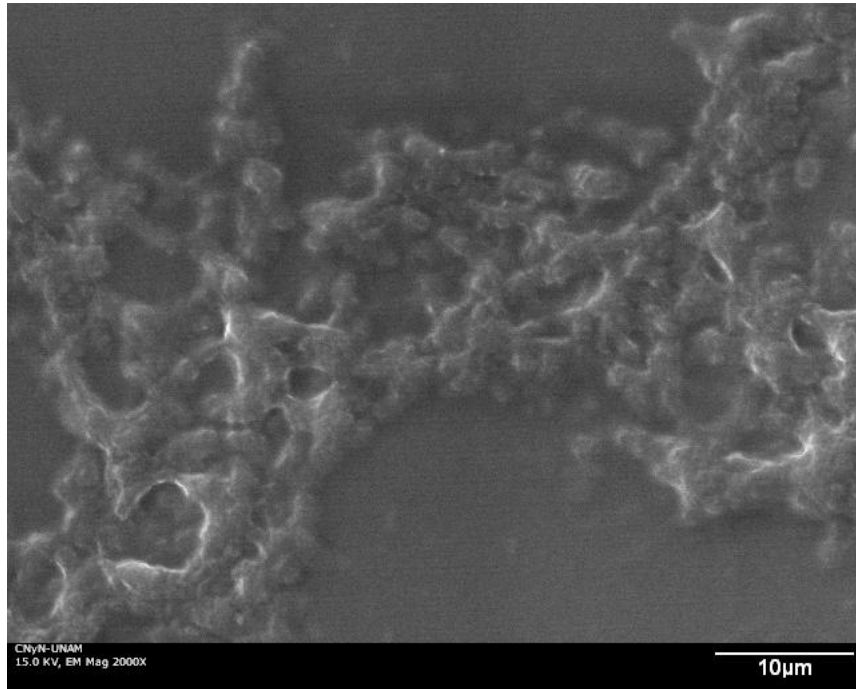


FIGURA 12. ACERCAMIENTO A LAS BIOPELÍCULAS DE MICOPLASMAS OBTENIDOS DE CULTIVOS EN PLACA DE LAS PACIENTES.

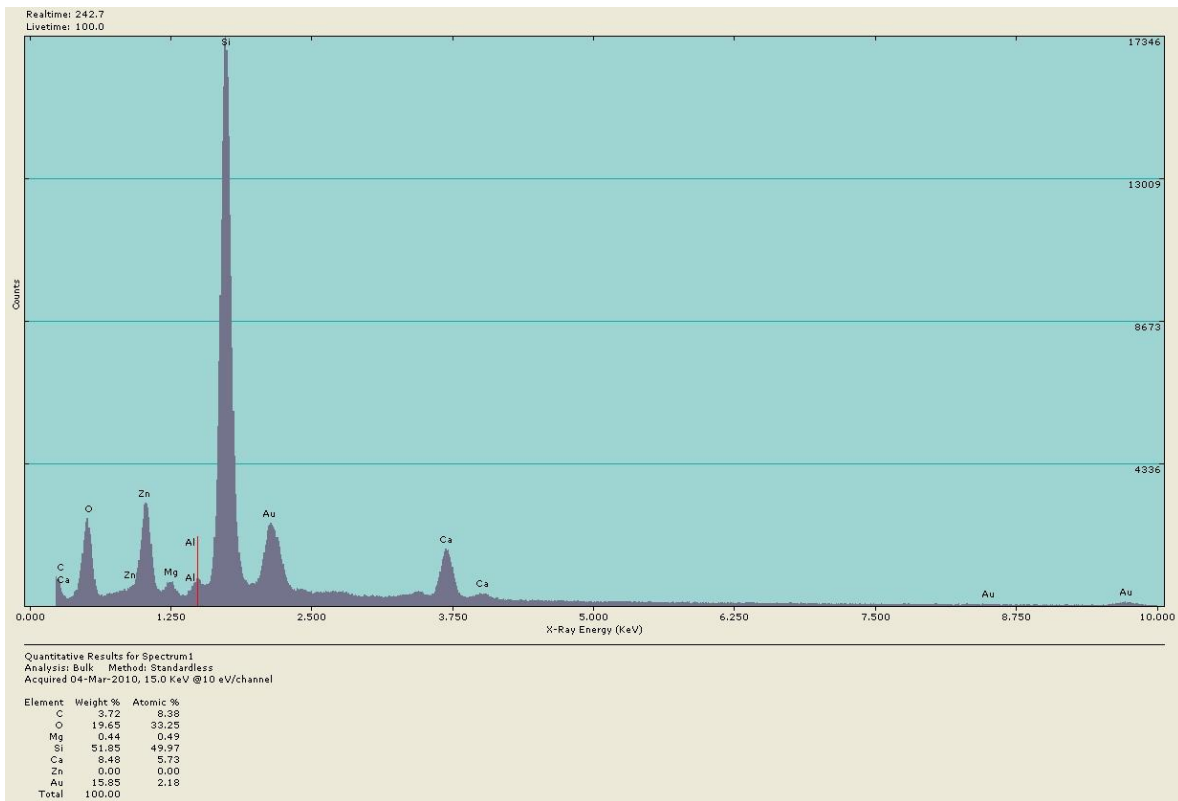


FIGURA 13. ESPECTROSCOPÍA DE ENERGÍA DISPERSA (EDS) DEL CONTROL NEGATIVO DEL CULTIVO EN PLACAS, DONDE NO SE DETECTA LA PRESENCIA DE ZINC.

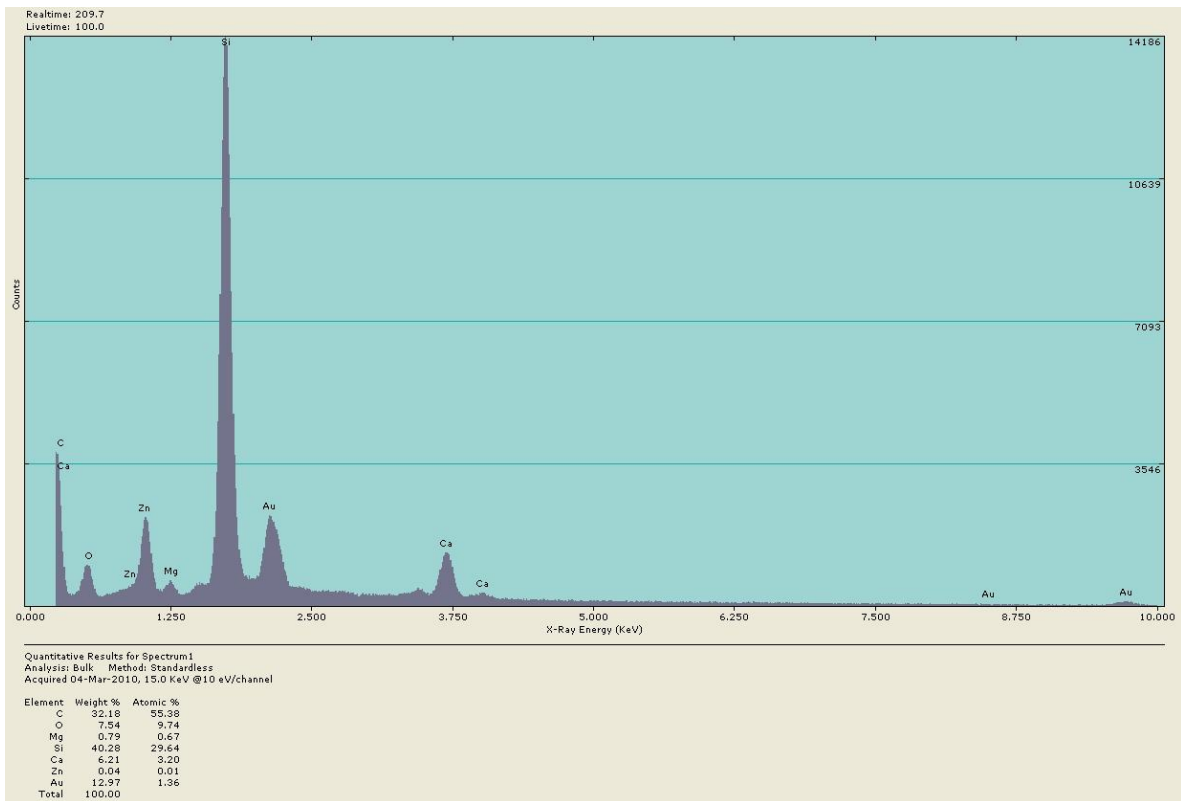


FIGURA 14. ESPECTROMETRÍA DE ENERGÍA DISPERSA (EDS) DEL CULTIVO DE CONTROL POSITIVO DE MICOPLASMAS CEPA GTU EN PLACA, DONDE SE APRECIA CONTENIDO DE ZINC.

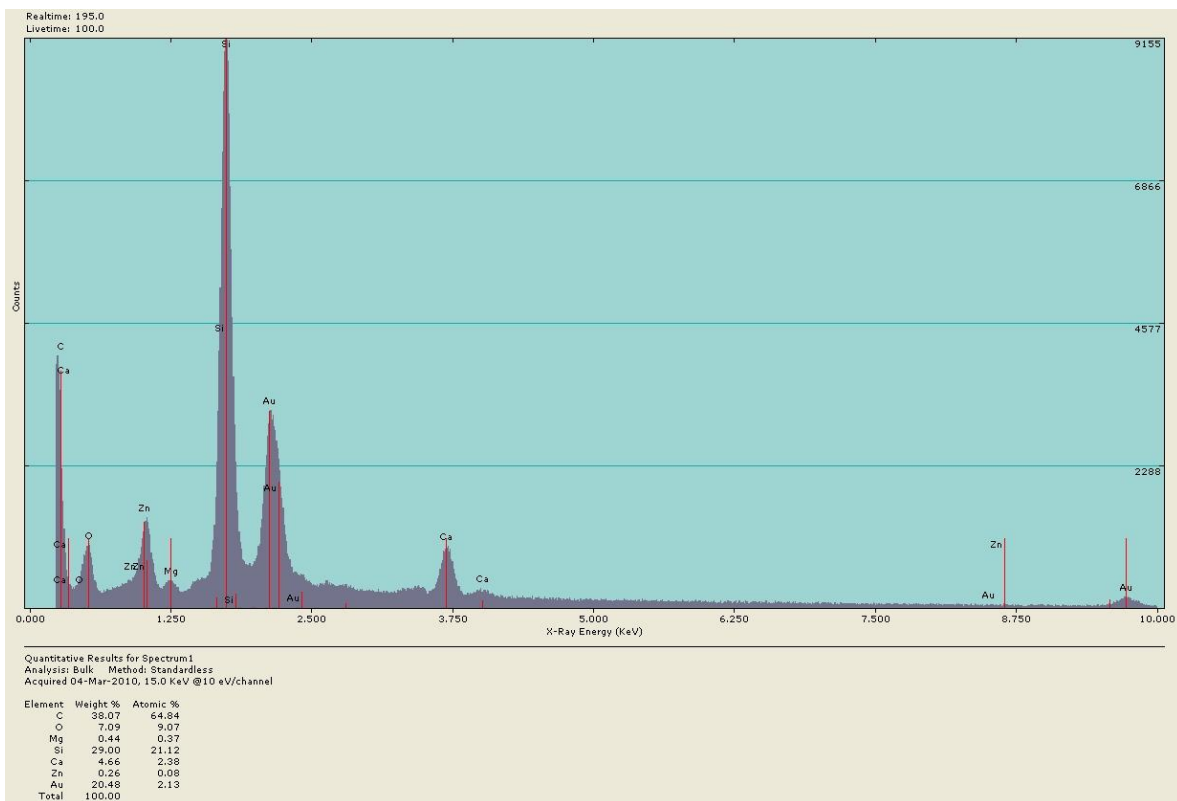


FIGURA 15. ESPECTROMETRÍA DE ENERGÍA DISPERSA (EDS) DEL CULTIVO POSITIVO DE MICOPLASMAS EN PLACA OBTENIDO DE LAS PACIENTES ESTUDIADAS, DONDE SE APRECIA CONTENIDO DE ZINC.

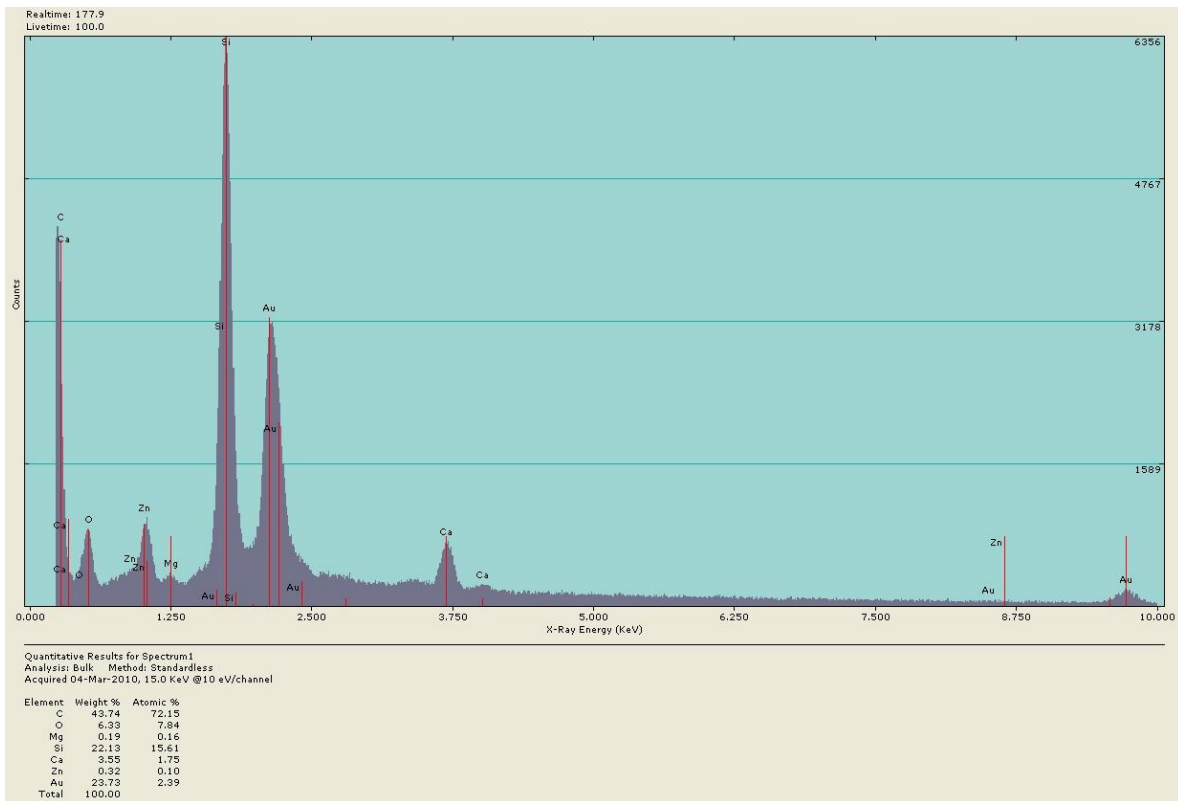


FIGURA 16. ANÁLISIS DE LOS COMPONENTES DE MICOPLASMAS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE ENERGÍA DISPERSA (EDS) OBTENIDOS DE EL CULTIVO POSITIVO EN PLACA DE LAS PACIENTES ESTUDIADAS DONDE SE APRECIA CONTENIDO DE ZINC.

### C) RELACIONADOS CON EL MEDIO AMBIENTE:

Se interrogó a las pacientes acerca de los factores del macro ambiente prevaletentes en el hogar y/o sitio de trabajo, de lo cual obtuvimos la siguiente información: El 53% tiene convivencia con aves de ornato (tales como canarios, periquitos, etc), el 40% convive con aves de corral (pollos, gallinas, guajolotes), y el 7% niega convivencia con algún tipo de ave.

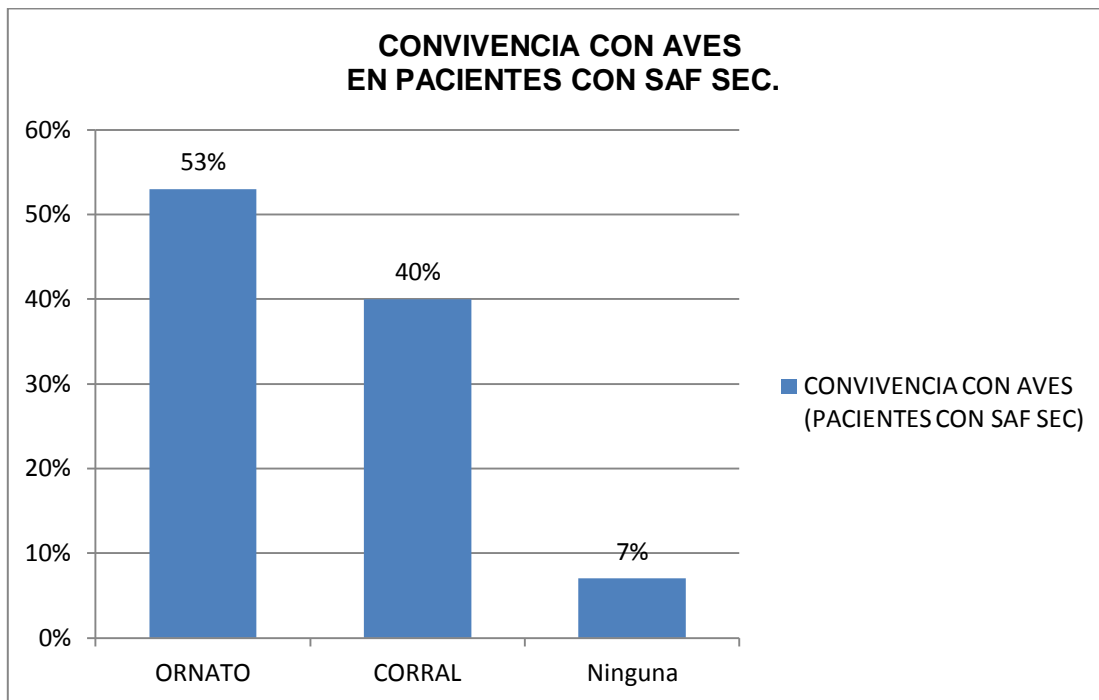


FIGURA 17. CONVIVENCIA CON AVES DE ORNATO Y DE CORRAL EN PACIENTES CON SAF SECUNDARIO.



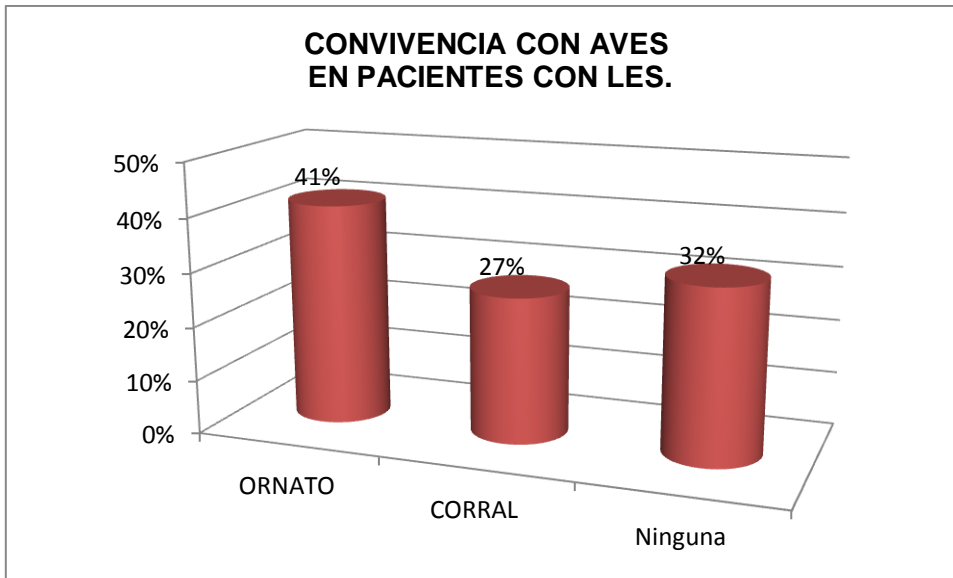


FIGURA 18. CONVIVENCIA CON AVES DE ORNATO Y DE CORRAL EN PACIENTES CON LES.

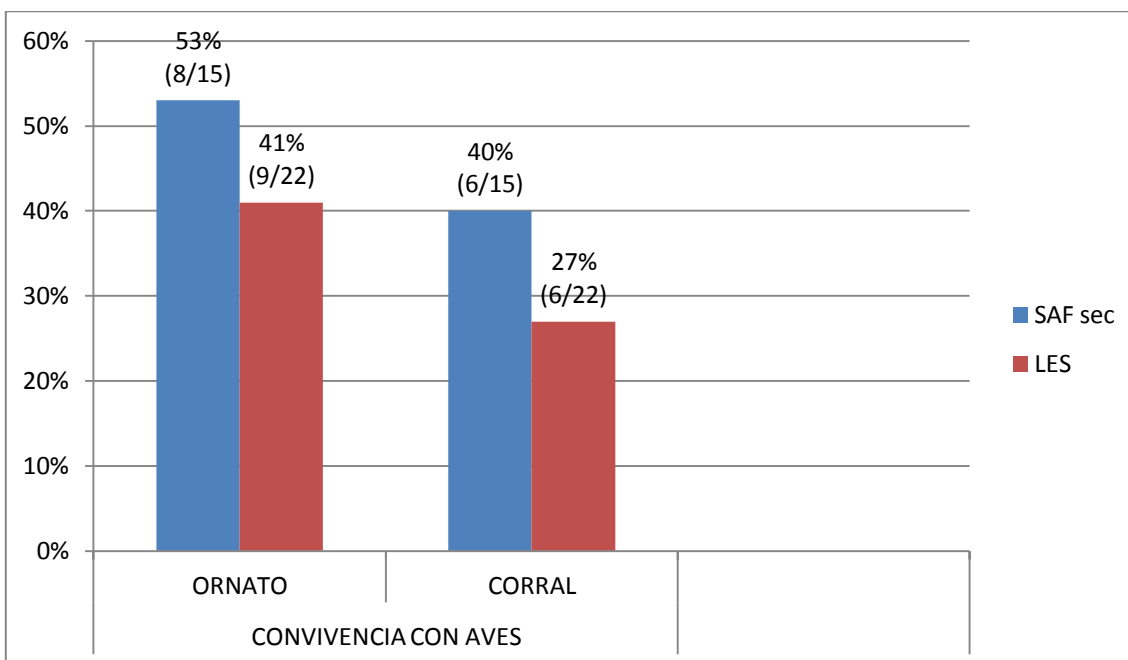


FIGURA 19. COMPARATIVO DE LOS PORCENTAJES DE CONVIVENCIA CON AVES EN PACIENTES CON SAF SECUNDARIO Y LES.

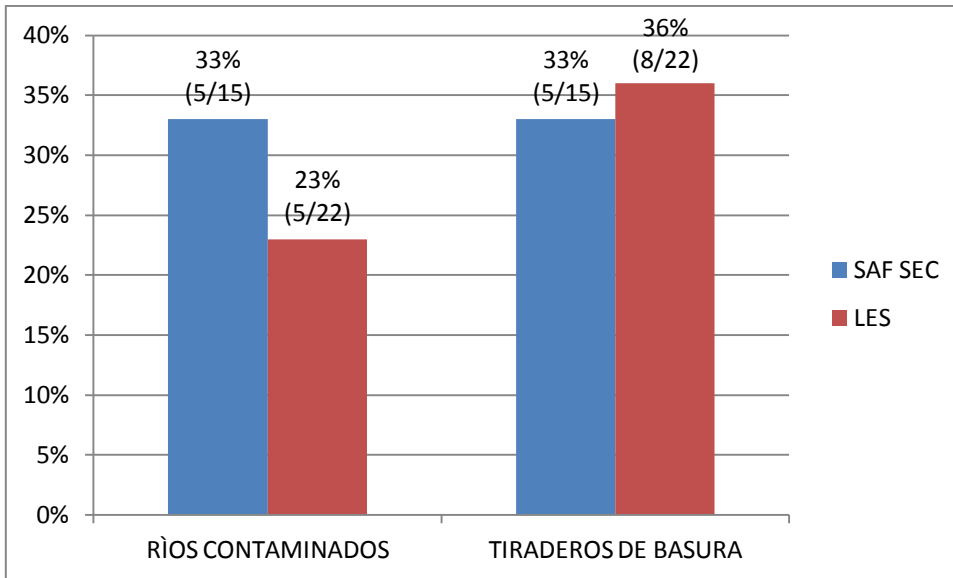


FIGURA 20. COLINDANCIA DE LAS PACIENTES CON RÌOS CONTAMINADOS Y TIRADEROS DE BASURA.

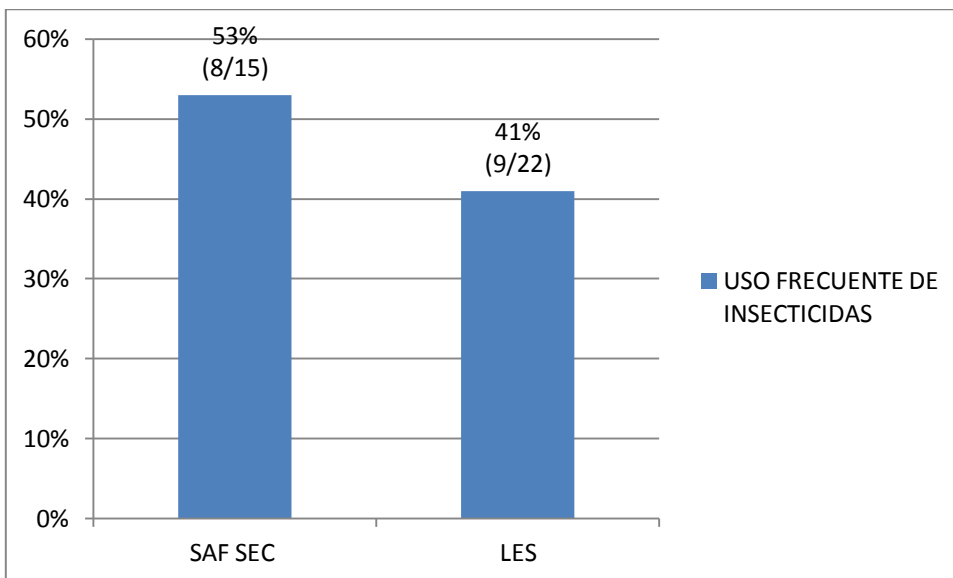


FIGURA 21. USO FRECUENTE DE INSECTICIDAS EN LAS PACIENTES CON SAF SECUNDARIO Y LES.

## DISCUSIÓN

Diversos estudios han llegado a la conclusión de que las enfermedades autoinmunes tienen una etiología multifactorial dependiendo de factores genéticos y ambientales. Las bacterias y los virus pueden inducir enfermedades autoinmunes por diferentes mecanismos.<sup>11,65,76</sup> Proteínas de ciertas bacterias pueden actuar como activadores policlonales de linfocitos; los virus pueden infectar y destruir un subconjunto específico de células T y pueden alterar el equilibrio de los subconjuntos T y luego alterar la respuesta inmune. Algunos microorganismos pueden actuar como superantígenos e inducir una exagerada respuesta de anticuerpos. Los microbios también pueden dirigir la liberación de citoquinas y quimiocinas que pueden actuar en el desarrollo, diferenciación o factores quimiotácticos para las diferentes poblaciones de células. El sistema inmunológico es tolerante a las moléculas de nuestras células pero algunos microorganismos contribuyen con nuestros antígenos por familias de proteínas conservadas y pueden inducir la producción de autoanticuerpos, este fenómeno se llama mimetismo molecular.<sup>76</sup>

Los agentes infecciosos desempeñan un papel importante en el SAF y el LES<sup>66,48,58,66</sup> Los agentes infecciosos pueden desempeñar un papel etiopatogénico en la expresión clínica de algunos pacientes con SAF, con infecciones bacterianas actuando probablemente como agentes desencadenantes agudos de SAF catastrófico, mientras que los virus, como el VHC y el VIH, pueden actuar en algunos pacientes como agentes desencadenantes crónicos que inducen una presentación atípica heterogénea de SAF.<sup>65</sup>

Los micoplasmas causan enfermedades agudas y crónicas en diferentes especies animales y en el hombre. También se han asociado con enfermedades autoinmunes como la artritis. Ellos evaden la respuesta inmune y persisten en el hospedero por semanas, meses o incluso años. Los micoplasmas entran un huésped apropiado en el que se multiplican y sobreviven por largos períodos de tiempo. Estos microorganismos han desarrollado mecanismos moleculares necesarios para hacer frente a la respuesta inmune del huésped; estos mecanismos incluyen el mimetismo de antígenos del huésped, y la supervivencia dentro de células fagocíticas, células no fagocíticas y la plasticidad fenotípica. El mimetismo molecular se refiere a epítopes antigénicos que se ha demostrado que son compartidos por diferentes micoplasmas y las células huésped y fueron propuestos como supuestos factores involucrados en los mecanismos de evasión de los de defensa del huésped o en los mecanismos de inducción de autoanticuerpos producidos durante algunas infecciones por micoplasmas.

Se ha demostrado que los micoplasmas activan monocitos, macrófagos, astrocitos cerebrales e inducen la secreción de citoquinas proinflamatorias.<sup>74</sup> Aparentemente los micoplasmas perdieron

genes implicados en la biosíntesis de aminoácidos, ácidos grasos, vitaminas cofactores y, por tanto, dependen del microambiente del hospedero para suministrar el espectro completo de los precursores bioquímicos requeridos para la biosíntesis de macromoléculas. La competencia por estos precursores biosintéticos de micoplasmas puede perturbar la integridad de la célula y alterar la función de la célula huésped. El contacto íntimo del micoplasma con la membrana de la célula huésped puede también dar lugar a la hidrólisis de fosfolípidos de células huésped catalizadas por la unión de fosfolipasas a la membrana, mismas que están presentes en muchas especies de micoplasmas. Esto podría desencadenar cascadas de señales específicas o la liberación de fosfolípidos citolíticos capaces de interrumpir la integridad de la membrana de la célula huésped. *M. penetrans* es capaz de estimular fosfolipasas del hospedero para escindir los fosfolípidos de membrana y algunos antígenos como la cardiolipina pueden estar expuestos a las células inmunes.<sup>74</sup> Se ha reportado que un número sustancial de pacientes con enfermedades respiratorias causadas por *Mycoplasma pneumoniae* tienen anticuerpos anti-cardiolipina. Además, muchos criterios clínicos de APS han sido bien documentados en pacientes con infección por *Mycoplasma pneumoniae* incluyendo la enfermedad de Guillan Barré, y otras manifestaciones sistémicas del sistema nervioso central, anemia hemolítica, prueba de Coombs positiva, trombocitopenia y artritis.<sup>9,78</sup>

Los anticuerpos antifosfolípidos también se encontraron en más del 50% de los pacientes con neumonía por *M. pneumoniae*<sup>78</sup> Catteau et al., Describió dos casos de síndrome de Steven Johnson asociados con la infección por *M. pneumoniae* y la presencia de anticuerpos antifosfolípidos<sup>15</sup>

Yáñez et al.<sup>85</sup> informó de un caso de una mujer de 17 años sexualmente inactiva que tuvo un inicio agudo de artritis, fiebre, anemia hemolítica, y que fue diagnosticado con APS.

Se aisló de la sangre, la garganta y aspirado traqueal a *Mycoplasma penetrans*, ella recibió tratamiento con clindamicina y vancomicina, y mejoró clínicamente después de los antibióticos, y fue dada de alta de la unidad de cuidados intensivos 9 días después de la admisión.<sup>85</sup>

Herrera et al.<sup>44</sup> determinaron la presencia de anticuerpos contra *Mycoplasma penetrans* en pacientes con síndrome antifosfolípido primario, síndrome antifosfolípido secundario, lupus eritematoso sistémico y controles. Ellos encontraron anticuerpos hasta en el 40% de los pacientes, en contraste con 4% de los controles.<sup>44</sup>

Tomamos muestras de sangre de las pacientes que tenían anticuerpos contra micoplasmas con el fin realizar un cultivo de micoplasmas; Se incluyó en este estudio a aquellas pacientes que resultaron positivas al cultivo de micoplasmas. Las pacientes con micoplasmas recibieron claritromicina, y durante el tratamiento mostraron una mejoría clínica. Después del tratamiento no se detectó la presencia de micoplasmas en la sangre. Como la mayoría de las pacientes estaban

recibiendo corticoesteroides es probable que éstos pudieran haber favorecido la proliferación de micoplasmas. Por otra parte el tratamiento con claritromicina en sí puede contribuir a la mejora de la artritis en las pacientes debido a su acción anti-inflamatoria.<sup>46,49,75</sup>

En el caso de SAF existen dos informes que determinaron la eficacia de los antibióticos. En el primer reporte un paciente con SAF asociado a *Helicobacter pylori*, en quien desaparecieron todas las manifestaciones de las enfermedades tras la erradicación de las bacterias. En otro informe se desarrolló un modelo experimental de SAF donde las manifestaciones fueron eliminadas por el tratamiento paralelo con ciprofloxacina.<sup>76</sup>

De acuerdo a lo registrado en este trabajo, la mayoría de las pacientes llevaba un tratamiento a base de prednisona y antibióticos, sin embargo con base en los resultados obtenidos parece ser que el tratamiento no es enfocado para controlar la presencia de *M penetrans* y por lo tanto el SAF presenta mayor agresividad, ya que al analizar muestras de sangre se obtuvieron resultados positivos para la bacteria. La presencia de *Mycoplasma penetrans* pudiera no ser casual y favorecer el desarrollo de SAF o LES, el hecho de hallar a la bacteria en las muestras de sangre indica la falta de una fuerte respuesta humoral que favoreció su diseminación aunado al hecho de que esta es capaz de producir fosfolipasa A2 para penetrar a la célula huésped y evadir la respuesta inmunitaria<sup>74</sup> lo que le permite permanecer en un hospedero durante un largo tiempo.

Aunque algunos aspectos acerca de la epidemiología y patogénesis de la infección por *M. penetrans* son desconocidos se ha observado una asociación común entre la presencia de enfermedades infecciosas y agravamiento temporal de los síntomas de SAF y/o LES, de manera que dependiendo de estos factores y el grado de infección pueden presentarse eventos de este tipo<sup>78</sup>. En este aspecto, Cervera y colaboradores analizaron las características clínicas de 100 pacientes con SAF asociado a infecciones y observaron que las manifestaciones clínicas principales incluyeron: infección de piel (18%), HIV (17%), neumonía (14%), hepatitis C (13%) e infecciones del tracto urinario (10%) sugiriendo que diferentes infecciones pueden estar asociadas con eventos trombóticos en pacientes con SAF, incluyendo el potencialmente letal SAF catastrófico<sup>17</sup>. Además se deben tomar en cuenta aspectos ambientales que influyan en una complicación de la enfermedad tales como: la conducta, nivel socioeconómico, posibles focos de infección y la presencia o contacto frecuente con reservorios.

Al analizar las muestras del ambiente obtenidas de la localidad de San Mateo Tezoquipan Miraflores en el estado de México, lugar de residencia de la paciente reportada por Yañez y cols.<sup>85</sup> no se encontraron resultados positivos en los cultivos para *M. penetrans*. Es importante aclarar si la contaminación puede contribuir como un factor para la persistencia de la enfermedad, así como también para la existencia de reservorios potenciales de esta bacteria<sup>53,73</sup>

Esta última consideración es muy importante porque ya se ha demostrado en otros trabajos que algunas especies de micoplasmas pueden sobrevivir en el ambiente durante un tiempo considerable y otros como *M. pneumoniae* pueden mantenerse en reservorios animales y transmitirse de manera horizontal al humano <sup>35</sup>. Esto abre nuevas posibilidades de investigación para *M. penetrans* porque no se conocen los sitios primarios de infección y tampoco se ha documentado la presencia de reservorios o transmisión zoonótica.

Nuestros resultados sugieren que la persistencia de la enfermedad se debe a la interacción entre estos componentes ambientales producto de las condiciones de vida en la localidad. Por un lado, el uso frecuente de insecticidas que mencionaron las pacientes supone un agente estresante que afecta negativamente la respuesta inmunitaria <sup>2</sup> y el contacto frecuente con aves de corral podría contribuir a la persistencia de la enfermedad, lo cual está soportado por el hecho de que se encontró crecimiento de la bacteria en muestras de tierra de jardín, tierra de gallinero y heces de palomas, además de que las pacientes mencionaron tener mayor contacto con aves de ornato y/o de corral.

Los niveles elevados de zinc en los micoplasmas obtenidos de las pacientes sugieren algún probable mecanismo de patogenicidad, ya que se sabe que existen microorganismos que poseen mecanismos para protegerse de la toxicidad por metales como el zinc, algunos de ellos son capaces de secuestrar y fijar estos elementos en la región extracelular, por ejemplo se sabe que las moléculas de lipopolisacárido de las bacterias gram negativas pueden fijar hasta siete átomos de zinc y que los fosfolípidos de la membrana de *E. coli* pueden fijar dos átomos de este metal <sup>19</sup>, También existe evidencia experimental de que probablemente *M. penetrans* podría tener un mecanismo de protección contra toxicidad por zinc, en un estudio realizado en carneros se observó un descenso en la cantidad de zinc después de inocularlos con *Mycoplasma agalactiae* <sup>27</sup>. Por otro lado, el contenido fisiológico de zinc es indispensable para mantener la función inmunitaria porque se ha demostrado que su deficiencia produce una mala fagocitosis, estallido oxidativo de monocitos, neutrófilos y granulocitos, descenso en la actividad de las células *natural killer* y en especial afecta la función inmunitaria mediada por células T <sup>23,39</sup>, en experimentos con *Mycoplasma arthritidis* se demostró que la unión del mitógeno de esta bacteria al complejo principal de histocompatibilidad tipo II (MHCII) depende de la cantidad de zinc, por lo que es necesario para una presentación eficiente a los linfocitos T <sup>29</sup>.

Es necesario realizar otros estudios con un mayor número de pacientes para comprobar si estos factores ambientales contribuyen a la persistencia de la enfermedad. Si bien aún falta determinar con certeza la participación de los componentes ambientales en el curso de la enfermedad, este trabajo ofrece una perspectiva ambiental que dará la pauta un control integral del SAF. Esto es muy importante ya que esta enfermedad ha ido cobrando relevancia en nuestro país debido al incremento en morbilidad y mortalidad materna por eventos tromboembólicos <sup>63</sup>. Por lo tanto,

queda en evidencia la necesidad de integrar el modelo de la triada ecológica en estudios epidemiológicos, ya que esto nos permitirá diseñar programas integrales de control.

El aporte principal de este estudio es la mejoría clínica de las pacientes que fueron tratadas con claritromicina, probablemente debido a la erradicación de micoplasmas de la sangre. Podría ser interesante hacer un estudio similar en un grupo mayor de pacientes con SAF y LES para estudiar su evolución en un seguimiento largo.

## **CONCLUSIONES**

### **RELACIONADAS CON EL MICROORGANISMO:**

- Poco se sabe del hábitat de los micoplasmas fuera del hospedero, por lo que las muestras obtenidas del ambiente dejan un precedente para profundizar en la investigación de los micoplasmas y el sitio de primo infección de las pacientes.
- La eliminación del componente microbiano de la triada ecológica mediante el uso de antibiótico (claritromicina) contra micoplasma mejoró el curso de la enfermedad en las pacientes disminuyendo su sintomatología general. Y negativizó los cultivos de micoplasma en sangre.

### **RELACIONADAS CON EL MICROORGANISMO-HOSPEDERO:**

- El análisis mediante SEM en las muestras obtenidas del ambiente reporta un alto contenido de zinc en las bacterias, probablemente involucrado en la patogénesis de la enfermedad.

### **RELACIONADAS CON EL MEDIO AMBIENTE:**

- Los factores ambientales referidos por las pacientes pueden jugar un papel importante en el curso de la enfermedad pero es necesario aumentar el tamaño de muestra para comprobar esta idea.



## REFERENCIAS

1. Abele-Horn, M., Busch, U., Nitschko, H., Jacobs, E., Bax, R., Pfaff, F., Schaffer, B AND Heesemann, J. (1998). Molecular approaches to diagnosis of pulmonary diseases due to *Mycoplasma pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*. 36: 548–551.
2. Acevedo-Whitehouse, K and Duffus, A. L. (2009). Effects of environmental change on wildlife health. *Philosophical Transactions of The Royal Society B*. 364: 3429-3438.
3. Alfaro, P. R. (2009). Síndrome antifosfolípido (Revisión bibliográfica). *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica*. 46: 313-317.
4. Amital, H., Govoni, M., Maya, R., Meroni, P. L., Ori, B., Shoenfeld, F., Tincani, A., Trotta, F., Sarzi-Puttini, P and Atzeni, F. (2008). Role of the infectious agents in systemic rheumatic diseases. *Clinical and Experimenta Rheumatology*. 26: S27-S32.
5. Armiju R., (1994). *Epidemiología básica en atención primaria para la salud*. Ediciones Díaz de Santos. P. 91.
6. Arredondo, A. (1992). Analysis and Reflection on Theoretical Models of the Health-Disease Process. *Cad. Saúde Públ., Rio de Janeiro*, 8 (3): 254-261, jul/set,
7. Asherson, R. A and Shoenfeld, Y. (2003). Human immunodeficiency virus infection, antiphospholipid antibodies, and the antiphospholipid syndrome. *Journal of Rheumatology*. 30: 214-219.
8. Asherson, R. A and Shonfeld, Y. (2000). The role of infection in the pathogenesis of catastrophic antiphospholipid syndrome-molecular mimicry. *Journal of Rheumatology*. 27: 12-14.
9. Asherson, R.A., & Cervera R. (1994). “Primary”, “secondary” and other variants of the antiphospholipid Syndrome. *Lupus* 3, 293-298
10. Baseman, J.B and Tully, J. G. (1997). Mycoplasmas: sophisticated reemerging and burdened by their notoriety. *Emerging Infectious Diseases*. 3: 21-32.
11. Blank, M., Krause, I., Fridkin, M., Keller, N., Kopolovic, J., Goldberg, I., Tobar, A., & Shoenfeld Y. (2002). Bacterial induction of autoantibodies to beta2-glycoprotein-I accounts for the infectious etiology of antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Invest.* 109(6), 797-804.
12. Bové, J. M. (1993). Molecular features of Mollicutes. *Clinical Infectious Diseases*. 17: S10-S31.
13. Branch, D. W and Silver, R. M. (1996). Criteria for antiphospholipid syndrome: early pregnancy loss, fetal loss, or recurrent pregnancy loss? *Lupus*. 5: 409-412.
14. Brown, D. R., Whitcomb, R. F and Bradbury, J. M. (2007). Revised minimal standards for description of new species of the class mollicutes (Division Tenericutes). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57: 2703–2719.
15. Catteau, B., Delaporte, E., Hachulla, E., Piette, F., & Bergoend H. (1995). Infection à mycoplasma avec syndrome de Stevens Johnson et anticorps antiphospholipides: à propos de deux cas. *Revue de médecine Interne* 16, 10-14

16. Cedillo, R. (1993). Mycoplasmas y Ureaplasmas. En: Tay, Z. J. (Ed). Microbiología y Parasitología Médicas 2ª Ed. Méndez Editores, México. Pp 1373-1382.
17. Cervera, R., Asherson, R. A., Acevedo, M. L., Gómez-Puerta, et al. (2004). Antiphospholipid syndrome associated with infections: clinical and microbiological characteristics of 100 patients. *Annals of Rheumatism Diseases*. 63: 1312-1317.
18. Chambaud, I., Wroblewski, H and Blanchard, A. (1999). Interactions between Mycoplasma lipoproteins and the host immune system. *Trends in Microbiology*. 7: 493-499.
19. Choudhury, R & Srivastava S. (2001). Zinc resistance mechanism in bacteria. *Current Science*. 81: 768-775.
20. Citti, C., & Blanchard A. (2013). Mycoplasmas and their host: emerging and reemerging minimal pathogens. *Trends in Microbiology* 21(4), 196-203
21. Citti, C., Nouvel, L. X and Baranowski, E. (2010). Phase and antigenic variation in mycoplasmas. *Future Microbiology*. 5: 1070-1085.
22. Contreras, R. M. (2009). Inmunopatología del síndrome antifosfolípido. *Revista Chilena de Reumatología*. 25: 149-155.
23. Driessen C., Hirv K., Kirchner H & Rink L. (1995). Zinc regulates cytokine induction by superantigens and lipopolysaccharide. *Immunology*. 84: 272-277.
24. Eckel, R. H., York, D. A., Rössner, S., Hubbard, V., Caterson, I., Sachoko, T., Hayman, L. L., Mullis, R and Blair, S. (2004). Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: executive summary. *Circulation*. 110: 2968-2975.
25. Egger, G., Swinburn, B and Rossner, S. (2003). Dusting off the epidemiological triad: could it work with obesity? *Obesity Reviews*. 4: 115-119.
26. Epstein, P. R. (2001). Climate change and emerging infectious diseases. *Microbes and Infection*. 3: 747-754.
27. Erman M., Seyyal A. K., Abdullah K., Alkan S., Gürel A., Karacoc Y., Kemal A. K., Bilal T., Dodurka T & Barutcu B. (2005). Serum zinc and copper concentrations in rams experimentally infected by *Mycoplasma agalactiae*. *Slovenian Veterinary Research*. 42: 31-36.
28. Espinosa, G., Santos, E., Cervera, R., Piette, J. C., de la Red, G., Gil, V., Font, J., Couch, R., Ingelmo, M., Asherson, R. A. (2003). Adrenal involvement in the antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic characteristics of 86 patients. *Medicine*. 82: 106-118.
29. Étongue-Mayer P., Langlois M. A., Ouellete M., Li H., Younes S., Al-Daccak R & Mourad W. (2002). Involvement of zinc in the binding of *Mycoplasma arthritidis*-derived mitogen to the proximity of the HLA-DR binding groove regardless of histidine 81 of the  $\beta$  chain. *European Journal of Immunology*. 32: 50-58.
30. Ferrer, N. M. (2005). Análisis de los proteomas de dos micoplasmas: *Mycoplasma penetrans* y *Micoplasma genitalium*. Tesis. Institut de Biotecnologia i Biomedicina de la Universitat Autònoma de Barcelona.

31. Finazzi, G., Barbui, T. (1996). Proposal of a clinical trial of high-dose warfarin in the antiphospholipid syndrome: The WAPS study. *Lupus* 5: 556.
32. Fuentes G., Cedillo L., Rivera JA., (2008). Formación de biopelícula por micoplasmas de importancia médica. *Univ, Médica de Bogotá (Colombia)*, 50(1):12-19.
33. Galli, M. (1996). Non  $\beta_2$ -glycoprotein I cofactors for antiphospholipid antibodies. *Lupus*. 5: 386-387.
34. García-Carrasco, M., Galarza-Maldonado, C., Mendoza-Pinto, C and Escarcega, R. O. (2009). Infections and the antiphospholipid syndrome. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. 36: 104-108.
35. Garg D. N. (2009). *Mycoplasmas of zoonotic significance*. College of Veterinary Sciences. CCS Haryana Agricultural University Hisar-125 4.
36. Giannakopoulos B., Passam F., Rahgozar S and Krills S. A. (2007). Current concepts on the pathogenesis of the antiphospholipid syndrome. *Blood*. 109: 422-430.
37. Gottdenker, N. L. (2009). Effects of anthropogenic land use change on the ecology of the Chagas disease agent *Trypanosoma cruzi*. *Athenaeum*. University of Georgia. <http://hdl.handle.net/10724/11511>.
38. Grau O., Slizewicz B., Tuppin P., Launay V., et al. (1995). Association of *Mycoplasma penetrans* with HIV infection. *Journal of Infection*. 172: 672–681.
39. Haase H & Rink L. 2009. The immune system and the impact of zinc during aging. *Immunity & Ageing*. 6: 9.
40. Hall, R. E., Agarwal, S and Kestler, D. P. (2000). Induction of leukemia cell differentiation and apoptosis by recombinant P48, a modulin derived from *Mycoplasma fermentans*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 269: 284-289.
41. Hanly, J. G. (2003). Antiphospholipid syndrome: an overview. *Canadian Medical Association Journal*. 168: 1675-1682.
42. Hatchel J., Balish R., Duley M., et al., (2006). Ultrastructure and gliding motility of *Mycoplasma amphoriforme*, a possible human respiratory pathogen. *Microbiology* , 152, 2181-2189.
43. Hawley, D. M., Lindström, K. M and Wikelsky, M. 2006. Experimentally elevated social competition compromises humoral immunocompetence in house finches. *Hormones and Behavior*. 49: 417-414.
44. Herrera- Saldívar, E., Yañez, A., Bañuelos, D., Gil, C., & Cedillo L. (2012). Presence of antibodies against *Mycoplasma penetrans* in patients with antiphospholipid Syndrome. In Bulikova A. (Ed.), *Antiphospholipid Syndrome* (pp. 85-96). Coatia: Intech.
45. Hughes, G. R. (1996). The Antiphospholipid syndrome. *Lupus*. 5: 345-346.

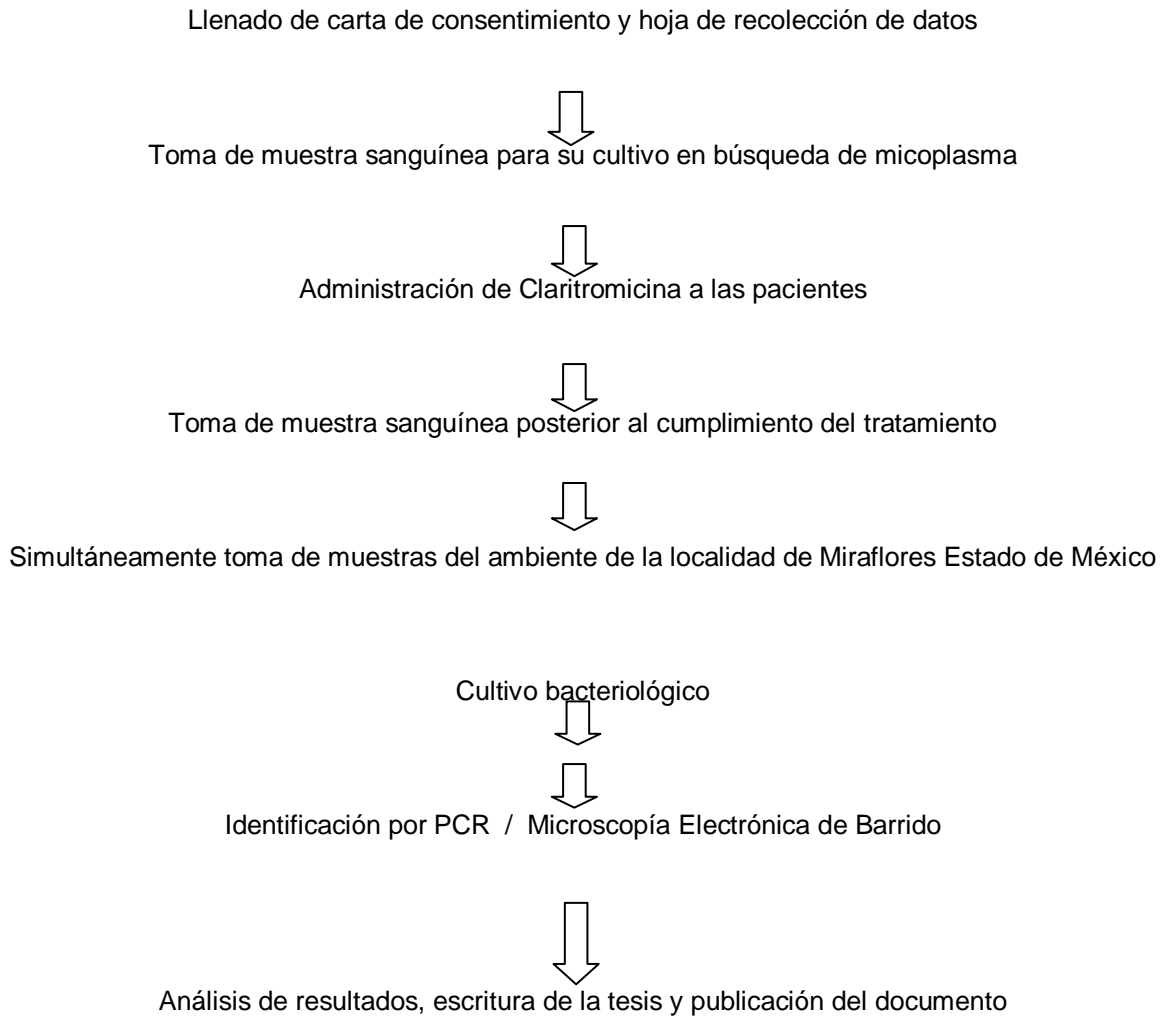
46. Ianaro, A., Ialenti, A., Maffia, P., Sautebin, L., Rombola, L., Carnuccio, R., Iuvone, T., D'Acquisto, F., & Di Rossa M. (2000). Anti-inflammatory activity of macrolide antibiotics. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 292(1), 156-163
47. INEGI 2013.
48. Labarca, J., Rabagliati, R., Radrigan, J., Rojas, P., Pérez, C., Ferrés, M., Acuña, G., & Bertin P. (1997). Antiphospholipid Syndrome Associated with Cytomegalovirus Infection: Case report and review. *Clin. Infect. Dis.* 24,197-200
49. Labro M.T. (1998). Anti-inflammatory activity of macrolides: a new therapeutic potential? *J. Antimicrob. Chemother.* 41(Suppl B), 37-46
50. Lafferty, K. D. (2009). The ecology of climate change and infectious diseases. *Ecology.* 90: 888-900.
51. Lim, W., Crowther, M. A and Eikelboom, J. W. (2006). Management of antiphospholipid antibody syndrome, a systematic review. *Journal of American Medical Association.* 295: 1050-1057.
52. Loarie S. R., Duffy PB., Hamilton H., et al (2009). The velocity of climate change. *Nature.* 462: 24-31.
53. Marois C., Dufour-Gesbert F & Kempf I. (2002). Polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum* in environmental samples. *Avian Pathology.* 31: 163-168.
54. Martin, L. B., Hawley, D. M and Ardia, D. R. (2011). An introduction to ecological immunology. *Functional Ecology.* 25: 1-4.
55. Matsuda K., Li J L., Ichinose S., Harasawa R., et al., (2000). Monoclonal antibody against *Mycoplasma fermentans* specific aminoglycerolipid. *Microbiology and Immunology.* 44: 695-702.
56. Mikola I., Balogh G., Nagg A., Matyas M., Rady M., Glavits R & Stipkovits L. (1997). Zoonotic outbreak of *Mycoplasma pneumonia* infection. *Magyar allatorvosok Lapja.* 119: 403-405.
57. Munder, M. (2009). Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *British Journal of Pharmacology.* 158: 638-651.
58. Nived, O., Sturfelt, G., & Wollheim F. (1985). Systemic Lupus Erythematosus and Infection: A controlled and prospective study including an epidemiological group. *QJM* 55(3-4), 271-289
59. Noyes DP., McElwee MK., Miller HD., et al., (2009). The toxicology of climate change: environmental contaminants in warming world. *Environment International.* 35: 971-986.
60. Ostfeld, R. S. (2009). Climate change and the distribution and intensity of infectious diseases. *Ecology.* 90: 903-905.
61. Patz, J. A and Olson, S. H. (2006). Climate change and health: global to local influences on disease risk. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology.* 100: 535-549.
62. Pierangeli, S. S and Harris, E. N. (1996). In vivo models of thrombosis for the antiphospholipid syndrome. *Lupus.* 5: 451-455.
63. Pouymiró, P. P and Pouymiró, B. I. (2012). Síndrome de anticuerpos antifosfolípidos. *MEDISAN.* 16: 429-444.
64. Ramos, N. F. (2000). *Manual Clínico de Reumatología.* ed JGH. Pp 127-132.

65. Ramos-Casals, M., Cervera, R., Lagrutta, M., Medina, F., García-Carrasco, M., de la Red, G., Bové, A., Ingelmo, M., & Font J. (2004). Clinical features related to antiphospholipid Syndrome in patients with chronic viral infections (Hepatitis C virus/HIV Infection): Description of 82 cases. *Clinical Infect. Dis.*38, 1009-1016
66. Ramos-Casals, M., Cuadrado, M.J., Alba, P., Sanna, G., Brito-Zerón, P., Bertolaccini, L., Babini, A., Moreno, A., D´Cruz, D., & Khamashta M. (2008). Acute viral infections in patients with Systemic Systemic Lupus Erythematosus: Description of 23 cases and review of the literatura. *Medicine* 87 (6), 311-318
67. Razin, S and Hayflick, L. (2010). Highlights of mycoplasma research-An historical perspective. *Biologicals*. In press. 1-8.
68. Reisinger, A and Dogra, N. K. (2008). Climate change and human health: protecting human health from climate change-some keys findings from the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. *Regional Health Forum*. 12: 1-10.
69. Rivera T, Cedillo R, Vega B. (2001). Micoplasmas y su importancia médica. *Revista Biomédica*. 12: 262-271.
70. Rivera-Tapia, J. A., Cedillo-Ramírez, L., Bermejo-Zapata, D y Giono-Cerezo, S. (2006). Papel de *Mycoplasma fermentans* en patologías gastrointestinales y su relación con la artritis reactiva. *Revista Mexicana de Patología Clínica*. 53: 134-138.
71. Rogers, D. J and Randolph, S. E. (2006). Climate change and vector-borne diseases. *Advances in parasitology*. DOI: 10.1016/S0065-308X (05) 62010-6.
72. Rojas, S. J. (1996). Síndrome de anticuerpos antifosfolípido. *Revista Mexicana de Reumatología*. 11: 179-185.
73. Romero P. M., Álvarez T. M & Álvarez P. A. (2007). Los factores ambientales como determinantes del estado de salud de la población. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 45 (2).
74. Rottem, S. 2003. Interaction of mycoplasmas with host cells. *Physiological Reviews*. 83: 417-432.
75. Scaglione, F., & Rossoni G. (1998). Comparative anti-inflammatory effects of roxithromycin, azithromycin and clarithromycin. *J. Antimicrob. Chemother.* 41 (Suppl B), 47-50
76. Shoenfeld, Y., Blank, M., Cervera, R., Font, J., Raschi, E., & Meroni P.L. (2006). Infectious origin of the antiphospholipid syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* 65, 2-6
77. Shyh-Ching, L., Wang, Y-H. R., Grandinetti, T., et al. (2005). *Mycoplasma penetrans* infections and seroconversion in patients with AIDS: identification of major mycoplasmal antigens targeted by host antibody response. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. 44: 277-282.
78. Snowden, N., Wilson, P. B., Longson, M and Pumphrey, R. S. (1990). Antiphospholipid antibodies and *Mycoplasma pneumonia* infection. *Postgraduate Medical Journal*. 66: 356-62.
79. Tan EM (1982) revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*25:1271-1277

80. Tanir, G., Aydemir, C., Yilmaz, D and Tuygun, N. (2006). Internal carotid artery occlusion associated with *Mycoplasma pneumonia* infection in a child. The Turkish Journal of Pediatrics. 48: 166-171.
81. Vargas F., (1999). Educación para la salud., Editorial Limusa. p.78.
82. Waites, K. B and Talkington, D. F. (2004). Mycoplasma pneumonia and its role as a human pathogen. Clinical Microbiology Reviews. 17: 697-728.
83. Wilson, W. A and Gharavi, E. A. (1996). Genetic risk factors for aPL syndrome. Lupus. 5: 398-403.
84. Witmer C. M., Steenhoff A. P., Shah S. S & Rafini L. J. (2006). *Mycoplasma pneumonia*, splenic infarct and transient antiphospholipid antibodies: a new association? Pediatrics. 3: e292-e295.
85. Yáñez, A., Cedillo, L., Neyrolles, O., et al. (1999). *Mycoplasma penetrans* bacteremia and primary antiphospholipid syndrome. Emerging Infectious Diseases. 5:164-167.
86. Yassi A., Kjellström T., et al. (2002) .Salud ambiental básica. Programa de asociaciones unidas para el medio ambiente. OMS. 1ª. Edición.

## ANEXOS

### Diagrama de flujo



Hoja de recolección de datos

<b>NOMBRE DE LA PACIENTE</b>		
<b>DOMICILIO</b>	SI	NO
<b>OCCUPACIÓN</b>		
<b>GESTAS</b>		
<b>PARTOS</b>		
<b>ABORTOS</b>		
<b>EVENTOS VASCULARES CEREBRALES</b>		
<b>TROMBOEMBOLIA PULMONAR</b>		
<b>INFARTO AGUDO AL MIOCARDIO</b>		
<b>TROMBOSIS VENOSA PROFUNDA EN MIEMBROS PÉLVICOS</b>		
<b>INGESTA DE ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS</b>		
<b>INGESTA DE ESTEROIDES</b>		
<b>INGESTA DE ANTIBIÓTICOS</b>		
<b>INGESTA DE ANTICOAGULANTES</b>		
<b>INGESTA DE INMUNOSUPRESORES</b>		
<b>CONVIVENCIA CON AVES DE ORNATO (canarios, periquitos, etc)</b>		
<b>CONVIVENCIA CON AVES DE CORRAL (pollos, palomas, guajolotes, etc)</b>		
<b>COLINDANCIA CON RÍOS CONTAMINADOS (en su casa o en su sitio de trabajo)</b>		
<b>COLINDANCIA CON TIRADEROS DE BASURA (en su casa o en su sitio de trabajo)</b>		
<b>USO FRECUENTE DE INSECTICIDAS (en su casa o en su sitio de trabajo)</b>		



**Carta de consentimiento informado**

<b>CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLINICA</b>	
<b>Lugar y Fecha</b>	
<p>Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado: "Papel de los componentes de la triada ecológica en el Síndrome de Anticuerpos Antifosfolípido"</p>	
<p>Registrado ante el Comité Local de Investigación o la CNIC con el número:</p>	
<p><b>El objetivo del estudio es:</b></p>	<p>Analizar los componentes de la triada ecológica que modifican el curso del SAF después del tratamiento antimicrobiano en pacientes portadoras de <i>M penetrans</i>.</p>
<p>Se me ha explicado que mi participación consistirá en: Tomar 1 tableta de claritromicina de 500 miligramos diario durante 10 días durante un periodo de 3 meses.</p>	
<p><b>Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes:</b></p> <p><b>Riesgo:</b> La posibilidad de ser alérgica a la claritromicina, <b>Molestias:</b> ninguna, <b>Beneficios:</b> la eliminación de los micoplasmas de la sangre periférica con posible mejoría de los síntomas generales.</p>	
<p>El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.</p> <p>Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.</p> <p>El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.</p>	

		<b>Nombre y firma del paciente</b> Dra. Elizabeth Herrera Saldívar		
		<b>Nombre, firma y matrícula del Investigador Responsable.</b>		
Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionadas con el estudio: 22 21 79 18 89				
<b>Testigos</b>				
<b>Este formato constituye sólo un modelo que deberá completarse de acuerdo con las características propias de cada protocolo de investigación y sin omitir información relevante del estudio.</b>				
<b>Clave: 2810 – 009 – 013</b>				