



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Caracterización Clínica, Serológica e Inmunogenética (HLA-DRB1) de Lupus Eritematoso Sistémico de Inicio Tardío, en una Población Colombiana

Édgar Alfonso Peñaranda Parada

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina - Unidad de Reumatología
Bogotá, Colombia
Enero 2012**

Caracterización Clínica, Serológica e Inmunogenética (HLA-DRB1) de Lupus Eritematoso Sistémico de Inicio Tardío, en una Población Colombiana

Édgar Alfonso Peñaranda Parada

**Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Especialista en Reumatología**

**Director:
Doctor Antonio de Jesús Iglesias Gamarra**

**Línea de Investigación:
Lupus Eritematoso Sistémico**

**Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina - Unidad de Reumatología
Bogotá, Colombia**

A mi madre: mi primera maestra

A mi padre: un hombre de su tiempo

Resumen

Se determinaron las diferencias clínicas, serológicas e inmunogenéticas (HLA-DRB1), entre pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) de inicio tardío versus enfermos con LES de inicio convencional. Estudio de corte transversal en una población de individuos Colombianos. Se analizaron múltiples variables clínicas y serológicas en 98 pacientes con LES tardío y 72 pacientes con LES de inicio convencional. Para la genotipificación del HLA-DRB1 se analizaron 62 muestras de pacientes con LES tardío y 179 muestras de pacientes sin enfermedad autoinmune. Se encontró en el grupo de LES tardío una mayor frecuencia de pleuritis, pericarditis, síntomas secos, linfopenia y mayores títulos de factor reumatoideo, en comparación con el grupo de LES convencional. El alelo HLA DR17 (DR3) se encontró con mayor frecuencia en el grupo de LES tardío, en comparación con individuos sin enfermedad autoinmune. Entre los grupos analizados existen diferencias clínicas, serológicas e inmunogenéticas.

Palabras clave: Lupus Eritematoso Sistémico (LES), Lupus de Inicio Tardío, Antígeno Leucocítico Humano DRB1 (HLA-DRB1).

Abstract

Were determined the clinical, serological and immunogenetic (HLA-DRB1) differences among patients with Late-onset systemic lupus erythematosus (SLE) versus SLE starting at younger ages. This is a cross-sectional study in a Colombian population. Clinical and serological variables were analyzed in 98 patients with late-onset SLE and 72 patients with early-onset SLE. The HLA-DRB1 genotyping was analyzed in 62 samples from patients with late-onset SLE and 179 samples from patients without autoimmune disease. The pleuritis, pericarditis, symptoms sicca, lymphopenia and higher titers of rheumatoid factor, were more frequent in late-onset SLE compared with SLE conventional group. In patients with late-onset SLE, the HLA DR17 (DR3) was found more frequently compared

to individuals without autoimmune disease. Among the groups studied, there were clinical, serological and immunogenetic differences.

Keywords: Systemic Lupus Erythematosus (SLE), Late-onset Lupus, Human Leukocyte Antigen DRB1 (HLA-DRB1).

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Lista de tablas	XI
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XII
Introducción	1
1. Marco Teórico.....	3
2. Objetivos.....	11
2.1 Objetivo General.....	11
2.2 Objetivos Específicos.....	11
2.3 Resultados Esperados.....	12
2.4 Impacto Esperado.....	12
3. Metodología	17
3.1 Diseño	17
3.2 Población.....	17
3.3 Criterios de Inclusión	17
3.4 Criterios de Exclusión	18
3.5 Variables Clínicas de Medición	18
3.6 Variables Paraclínicas de Medición	18
3.7 Instrumentos de Registro.....	19
3.8 Análisis Estadístico.....	20
3.9 Costos y Financiación.....	20
3.10 Consideraciones Éticas	21
4. Resultados.....	25
5. Discusión	33
A. Anexo: Consentimiento Informado	39
B. Anexo: Instrumento 1. Variables Clínicas y Criterios de LES	45
C. Anexo: Instrumento 2. Variables Paraclínicas	49
Bibliografía	53

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1: Características Demográficas.....	25
Tabla 2: Frecuencia de los Hallazgos Clínicos en LES.	26
Tabla 3: Frecuencia de Hallazgos Paraclínicos anormales en LES.....	27
Tabla 4: Frecuencia de Alelos DR entre LES Tardío y Controles sin Enfermedad Autoinmune.....	28
Tabla 5: Frecuencia de Alelos DR entre LES Tardío y LES Convencional	29

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos

Símbolos	Término
<	Menor a
≤	Menor o igual a
>	Mayor
≥	Mayor o igual a
=	Igual
#	Número

Subíndices

Subíndice	Término
dL	Decilitros
ml	Mililitros
mg	Miligramos
mm ³	Milímetros cúbicos
L	Litros
UI	Unidades Internacionales

Abreviaturas

Abreviatura	Término
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ACL	Anticuerpos Anticardiolipinas
ANAS	Anticuerpos Anti nucleares
ANOVA	Análisis de Varianza
ALT	Alanino Transaminasa
AST	Aspartato Transaminasa
BUN	Nitrógeno Ureico Sanguíneo
ch ²	Prueba Estadística de Chi cuadrado
CMH	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
DNA	Acido Desoxirribunucleico
DR	Alelos DR del gen Antígeno Leucocítico Humano
DRB1	Proteína Cadena Beta 1 del Receptor DR

Abreviatura	Término
<i>EDTA</i>	Acido etilendiaminotetraacético
<i>ELISA</i>	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>
<i>FR</i>	Factor Reumatoideo
<i>HLA</i>	Antígeno Leucocítico Humano
<i>HLA-DRB1</i>	Gen que codifica la Proteína Cadena Beta 1
<i>IC</i>	Intervalo de Confianza
<i>IFI</i>	Inmuno Fluorescencia Indirecta
<i>Ig</i>	Inmunoglobulina
<i>LES</i>	Lupus Eritematoso Sistémico
<i>n</i>	Tamaño de muestra
<i>OR</i>	<i>Odds ratio</i> (razón de probabilidades)
<i>p</i>	Valor p de significancia estadística
<i>PCR</i>	Proteína C Reactiva
<i>SAF</i>	Síndrome Antifosfolípídico
<i>SDI</i>	<i>Systemic Lupus Damage Index</i>
<i>SLEDAI</i>	<i>Lupus disease activity index</i>
<i>SNPs</i>	Polimorfismos de Nucleótido Simple
<i>SS</i>	Síndrome de Sjögren
<i>Stata</i>	<i>Data Analysis and Statistical Software</i>
<i>TNF</i>	Factor de Necrosis Tumoral
<i>UV</i>	Rayos Ultravioleta
<i>VSG</i>	Velocidad de Sedimentación Globular

Introducción

Los individuos mayores de 50 años de edad quienes reúnen los criterios diagnósticos del *American College of Rheumatology (ACR)* para Lupus Eritematoso Sistémico, constituyen el subgrupo de enfermos con LES de inicio tardío. Este conjunto de pacientes tienen características clínicas y serológicas distintivas, de aquellos cuyo inicio de la enfermedad ocurre en etapas más tempranas, tales como un comienzo insidioso de la sintomatología y manifestaciones clínicas no específicas, las cuales retardan injustificadamente el diagnóstico y tratamiento de la patología, con consecuencias deletéreas para la salud de los afectados. Con base en el razonamiento anterior y la revisión de la literatura científica mundial, es imperativa una apropiada caracterización clínica y serológica de los pacientes *colombianos* con LES de inicio tardío. Nuestra población difiere notablemente de los grupos estudiados y referenciados por los autores de publicaciones internacionales. La inmensa mayoría de los pacientes *colombianos*, tienen una alta tasa de mestizaje que confiere un fondo genético único y probablemente variaciones en cuanto a frecuencia, forma de presentación, compromiso orgánico y severidad del Lupus Eritematoso Sistémico. De igual manera, los agentes ambientales disparadores de la enfermedad varían geográficamente según la población y región estudiada, impactando de forma variable las manifestaciones clínicas y la severidad de la enfermedad, en comparación con pacientes de otras latitudes; lo cual aumenta la necesidad de conocer en nuestro grupo poblacional, las distintivas formas de enfermar de nuestros pacientes con respecto al Lupus de inicio tardío.

Los estudios de susceptibilidad genética en LES, usualmente no hacen diferencia ni caracterizan a los pacientes de inicio tardío, respecto a otros grupos cuya enfermedad debutó en edades más tempranas. La información disponible respecto a la asociación entre riesgo conferido por el *HLA* clase II (DRB1) y LES de inicio tardío, es prácticamente inexistente. Dada las diferencias clínicas y serológicas evidenciadas en varias investigaciones, entre el LES de inicio tardío y la forma temprana de la enfermedad, es

fundamental investigar la existencia de diferencias inmunogenéticas que puedan sustentar en parte, la variabilidad clínica y de laboratorio en los pacientes con Lupus de inicio tardío; y de esta forma, cimentar las bases de una posible explicación fisiopatológica, que permita un mejor entendimiento de la enfermedad en este grupo poblacional y que abra un nuevo horizonte terapéutico.

1. Marco teórico

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES), es una enfermedad autoinmune crónica, de etiología desconocida, poligénica, multifactorial, caracterizada por diversas alteraciones inmunológicas, como la pérdida de la autotolerancia, la activación policlonal de linfocitos B y la producción de múltiples autoanticuerpos no órgano específicos. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son diversas y pueden comprometer todos los órganos o sistemas corporales. El LES es una patología compleja, con una presentación, curso clínico y pronóstico variables, caracterizada por períodos de remisiones y exacerbaciones (1, 2).

Los factores etiopatogénicos que pueden influenciar el desarrollo de LES, incluyen el fondo genético del paciente, agentes ambientales (superantígenos, virus, radiación UV, medicamentos), entorno hormonal, edad y probablemente otros factores hasta el momento desconocidos (3). El grupo de pacientes quienes sufren de LES de forma más frecuente, son mujeres entre la segunda y la cuarta décadas de la vida.

El LES de inicio tardío representa un subgrupo específico de la enfermedad, la cual se define clínicamente después de los 50 años de edad (3, 4). La incidencia de LES de inicio tardío es baja, representando el 12%-18% del total de la población con la enfermedad. La mayor prevalencia del Lupus en mujeres es conservada en el subgrupo de LES de inicio tardío, sin embargo, la relación mujer/hombre (1,1:1 – 7:1) disminuye respecto a LES de inicio en personas jóvenes (5,7:1–9:1). La enfermedad de inicio tardío está reportada de forma más frecuente en la población Caucásica (3-5).

Algunas investigaciones sugieren que el Lupus de inicio tardío puede tener un curso clínico diferente, con un debut más insidioso y manifestaciones clínicas iniciales no específicas, estas incluyen artralgias, debilidad, fatiga, mialgias, pérdida de peso, hiporexia y deterioro de la función cognoscitiva (3, 6). En el grupo de pacientes con LES de inicio tardío las manifestaciones en piel, fotosensibilidad, artritis y nefritis son menos frecuentes en comparación con los sujetos cuyo inicio de la enfermedad ocurre en

edades más tempranas. En el Lupus de inicio tardío, está reportada una mayor incidencia de serositis, compromiso pulmonar y síndrome de Sjögren (3-7). El estudio de *Appenzeller 2008* evidenció en los pacientes con LES de inicio tardío una mayor frecuencia de Fenómeno de Raynaud, Hipertensión Arterial Sistémica y anormalidades hematológicas (Anemia Hemolítica y Trombocitopenia) (8).

Un “*aparente*” curso más benigno de la enfermedad de inicio tardío, ha sido descrito en algunos estudios en comparación con pacientes más jóvenes, con menor prevalencia de compromiso de sistema nervioso central, nefritis y manifestaciones dérmicas (9). No obstante, otras investigaciones han evidenciado un daño similar en piel, riñón y sistema nervioso en ambos grupos, pero un mayor deterioro cardiovascular, músculo-esquelético y aumento de malignidad en el grupo con LES de inicio tardío, indicando que el Lupus no puede ser juzgado como más benigno en los pacientes mayores, dado que el daño acumulado por la edad, comorbilidades y el impacto de la enfermedad en este grupo, confieren importantes factores de riesgo para el desarrollo de complicaciones y aumento de la mortalidad (10-12). Por tanto, a pesar de unas primeras manifestaciones clínicas en el LES de inicio tardío, de menor severidad con respecto a pacientes más jóvenes, aquellos deben tener una estrecha monitorización y una identificación temprana de complicaciones, que permita un tratamiento oportuno y un mejor pronóstico de la enfermedad (8).

En relación con la prescripción de medicamentos, los pacientes con Lupus de inicio tardío tienen un menor uso de corticoesteroides e inmunosupresores, probablemente por la *relativa* menor severidad de daño a órgano blanco, sin embargo, la mortalidad es mayor en enfermos con LES de inicio tardío, con una tasa de supervivencia a 10 años de 71% vs 95% con respecto a pacientes jóvenes (13, 14). Después de los 50 años de edad las comorbilidades son mucho más importantes que antes de los 30 ó 40 años. Por consiguiente, en pacientes mayores, el LES es un disparador o favorecedor de otras enfermedades incluyendo complicaciones cardiovasculares, infecciones y osteoporosis, las cuales agravan el pronóstico y probablemente condicionan el aumento de mortalidad demostrado en este grupo de pacientes; mientras la causa más frecuente de muerte entre los enfermos con LES de inicio temprano fueron las complicaciones directas por el Lupus, en los pacientes con LES de inicio tardío, la enfermedad cardiovascular fue la principal causa de muerte. Por tanto, este grupo de pacientes mayores, requiere tanto o

más interés clínico en el estudio y vigilancia de las complicaciones producidas por la enfermedad como de sus comorbilidades (11, 15).

Los pacientes con LES de inicio tardío tienen una frecuencia y tipo de autoanticuerpos que difieren de los enfermos más jóvenes. Los sujetos con Lupus de inicio tardío tienen una mayor prevalencia de Factor Reumatoideo, también de anticuerpos anti-Ro y anti-La, y una baja ocurrencia de anti-RNP e hipocomplementemia (3, 16). La presencia de anticuerpos anti-DNAs tiende a ser más baja que en pacientes más jóvenes y no se han correlacionado consistentemente con complicaciones orgánicas por la enfermedad (3, 17). No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas con la prevalencia de anticuerpos antinucleares (ANAS) ni anticuerpos antifosfolipídicos (8, 11). Sin embargo, no todas las publicaciones coinciden con los anteriores hallazgos, en el estudio de *Padovan 2007* no hubo diferencias significativas en la presencia de anti-Ro y anti-La, mientras que la frecuencia de hipocomplementemia fue más prevalente en el grupo de LES de inicio tardío. Los valores de Factor Reumatoideo fueron más comúnmente elevados en los pacientes mayores de 65 años, no obstante su positividad en ausencia de síndrome de Sjögren, puede ser explicada por el hecho que el Factor Reumatoide es más frecuente en población anciana (18).

El análisis de actividad de la enfermedad en los pacientes con Lupus de inicio tardío, varía según la escala utilizada. En el estudio de *Appenzeller 2008*, los enfermos con LES de inicio tardío al momento del diagnóstico, tenían menor SLEDAI (*SLE disease activity index*) comparados con aquellos de inicio temprano, hallazgo observado en otros trabajos. En los primeros 6 meses de inicio de la enfermedad, los pacientes con Lupus de inicio tardío tenían medias en la escala SDI (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology-damage Index*) mayores comparados con aquellos afectados por Lupus de inicio temprano. También observaron que el grado de daño orgánico acumulado, se correlacionaba directamente con la edad de inicio, siendo mayor en las personas de más edad al momento del diagnóstico de Lupus. Cabe señalar que la escala SDI fue creada en su mayoría por elementos tales como cataratas, debilidad muscular, osteoporosis con fracturas vertebrales, atrofia de piel, malignidad e infarto de miocardio, las cuales son condiciones no solamente relacionadas con efectos adversos de la medicación, sino también con las comorbilidades de este grupo de edad mayor. En conclusión, los más altos valores de SDI y un incremento en la mortalidad en el grupo con LES de inicio tardío, refuerzan los hallazgos que en este conjunto de

pacientes, debe existir un seguimiento más estrecho porque tienen mayor susceptibilidad al daño orgánico en el seguimiento a largo plazo, tanto por la enfermedad de base como por las comorbilidades concomitantes (8). En el estudio de *Maddison 2002*, examinaron los datos de un grupo multiétnico de pacientes con Lupus, quienes fueron seguidos hasta por 5 años en diferentes instituciones de Norteamérica y Europa, y concluyeron que los afectados por LES de inicio tardío tenían mayor daño acumulado en comparación con aquellos pacientes con Lupus de inicio temprano (10).

El seguimiento de los pacientes con Lupus, constituye un punto fundamental por los cambios clínicos, serológicos y complicaciones que pueden presentar los afectados en el curso del tiempo. En el trabajo de *Cervera 1993* siguieron prospectivamente un grupo de 1000 pacientes con LES. En 90 pacientes (9%) la enfermedad inició después de los 50 años de edad. Al comienzo del Lupus estos pacientes tenían baja incidencia de artritis, exantema y nefropatía; en el seguimiento de su enfermedad, la prevalencia de artritis, exantema, fotosensibilidad, nefropatía y anticuerpos anti-La disminuyeron, mientras la incidencia de síndrome de Sjögren se incrementó (3, 19). El resultado de un metaanálisis publicado por *Ward 1989* fue el hallazgo de una alta incidencia de enfermedad pulmonar intersticial, serositis, síndrome de Sjögren así como también anticuerpos anti-La en Lupus de inicio tardío. En estos pacientes, los desórdenes neuropsiquiátricos, el Fenómeno de Raynaud, alopecia, linfadenopatías e hipocomplementemia ocurrieron menos frecuentemente (3, 20).

Dado el comienzo insidioso y a menudo con manifestaciones no específicas del LES de inicio tardío y su baja frecuencia en la población anciana, el diagnóstico no oportuno de la enfermedad es bastante común. El intervalo desde las primeras manifestaciones al establecimiento del diagnóstico del Lupus es más largo (19-50 meses) en comparación con pacientes jóvenes (5-24 meses). Los más frecuentes errores diagnósticos incluyen Polimialgia Reumática, Artritis Reumatoide, Osteoartritis, infecciones y malignidades (3, 6, 21). Debido al hecho que el LES de inicio tardío, afecta pacientes con múltiples comorbilidades que requieren el uso de varios fármacos, el diagnóstico diferencial debe también incluir el Lupus inducido por medicamentos, tales como la Procainamida, Isoniazida, Metildopa, Carbamazepina, Acebutolol, Hidralazina, Clorpromazina, Sulfasalazina y D-Penicilamina (3).

Al igual que con otras enfermedades autoinmunes, la susceptibilidad al LES depende de múltiples genes. La predisposición genética está definida como los genes que aumentan el riesgo relativo para una enfermedad, aun cuando muchos individuos con aquellos genes sean sanos. El riesgo conferido por la susceptibilidad genética al Lupus en humanos incluye: un incremento en 10 veces el riesgo para la enfermedad clínica en gemelos monocigóticos en comparación con hermanos dicigóticos, un aumento en 5 a 29 veces el riesgo relativo para los familiares en primer grado de pacientes con Lupus, ocho regiones cromosómicas establecidas y confirmadas ligadas al LES, y cinco segmentos génicos ligados a subgrupos de la enfermedad, algunas asociaciones establecidas y confirmadas del Lupus con variantes y haplotipos de genes, y demostración funcional de algunos polimorfismos genéticos asociados a LES (1, 22, 23).

Los genes contenidos en la región del Antígeno Leucocítico Humano (*Human Leukocyte Antigen-HLA*) ubicada en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.3), tienen una fuerte asociación con el riesgo de presentar LES y la producción de autoanticuerpos específicos de la enfermedad. No solamente hay cientos de genes en esta región, algunos de los cuales tienen una clara función inmunoreguladora, la misma está también caracterizada por un alto grado de desequilibrio de ligamiento, el cual resulta en largos tramos de ADN que abarcan muchos genes que se heredan juntos como una unidad (Haplotipo) (24, 25). El interés en esta región para el estudio del LES, ha estado focalizado en los genes altamente polimórficos *HLA* de clase I y II, que codifican glicoproteínas de membrana que presentan péptidos para el reconocimiento por linfocitos T. Igualmente, se han investigado los genes dentro de la región del *HLA* clase III, particularmente los *loci* del Factor de Necrosis Tumoral (*TNF*) y el componente C4 del complemento. De hecho, la deficiencia hereditaria de los alelos C4a, ha sido reconocida como un fuerte factor de riesgo genético para el desarrollo del Lupus (26). En los trabajos de *Graham* (27, 28), que involucra un análisis de aproximadamente 50 marcadores genéticos de microsatélites, a través de la región *HLA* entre un grupo de 780 familias con LES, destacó la importancia de los Haplotipos clase II con la participación de los *loci HLA-DRB1* y *DQB1*, en particular los correspondientes a los tipos serológicos *HLA-DR2* y *DR3*. En un análisis de 314 familias con Lupus en el Reino Unido, incluyeron 68 Polimorfismos de Nucleótido Simple (*SNPs*) demostrando la presencia de dos asociaciones independientes con la enfermedad, una que involucra los *loci HLA-DRB1*, *-DQA1* y *-DQB1* de clase II (tipo serológico DR3), y otra señal en la región clase III con

una fuerte asociación para un marcador en el gen *SKIV2L* y pareciendo excluir el polimorfismo del promotor *TNF-308* (29).

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Describir las diferencias clínicas, serológicas e inmunogenéticas, entre pacientes Colombianos con LES de inicio tardío versus enfermos con LES de inicio en edades más tempranas.

2.2 Objetivos Específicos

Determinar las características clínicas entre LES de inicio tardío y LES convencional, estableciendo puntos de comparación entre estas dos variantes de la enfermedad, de forma que permita al clínico obtener claves diagnósticas para su oportuna detección y tratamiento.

Determinar si existen diferencias en el laboratorio clínico entre los pacientes con LES de inicio tardío en comparación con LES de inicio temprano o convencional. El conocimiento de tales diferencias serológicas permitirá al clínico sospechar y reconocer oportunamente al LES tardío como variante de la enfermedad.

Determinar si existen diferencias en la inmunotipificación del *HLA* clase II (DRB1) en los pacientes con LES de inicio tardío en comparación con LES de inicio temprano, como hallazgo que pueda sugerir diferencias en la susceptibilidad genética entre los dos grupos y contribuir en sus diferencias clínicas y serológicas.

2.3 Resultados Esperados

Caracterización demográfica de un grupo de pacientes Colombianos con LES de inicio tardío; la cual posiblemente evidenciará un predominio en mujeres, pero con un valor en la relación respecto a hombres, menor que el reportado en edades más tempranas.

Descripción de los hallazgos clínicos y serológicos que diferencian a una muestra de pacientes Colombianos con LES de inicio tardío, de aquellos con Lupus de inicio en edades más tempranas; con probablemente un inicio de la enfermedad insidioso, manifestaciones clínicas poco específicas, retardo en el diagnóstico, mayor compromiso pleuro-pulmonar y hematológico, menor daño renal y cutáneo, aumento de las comorbilidades y mayor frecuencia de anticuerpos Anti-Ro, Anti-La y Factor Reumatoideo.

Descripción de la inmunotipificación *HLA* clase II (DRB1) en una muestra de pacientes Colombianos con LES de inicio tardío, en comparación con sujetos tanto con LES de inicio temprano como con individuos sanos. Resultados no descritos en otros estudios de la literatura científica, para la población con Lupus de inicio tardío.

2.4 Impacto Esperado

Fortalecimiento del conocimiento nacional en el área del Lupus Eritematoso Sistémico, a través de los resultados generados por este proyecto, que permita al gremio médico Colombiano, *la oportuna y correcta identificación de los pacientes con LES de inicio tardío, para su apropiado tratamiento y buen pronóstico.*

Ampliar el conocimiento sobre el proceso fisiopatológico del LES y los probables factores que participan en la actividad de la enfermedad, principalmente en el grupo de Lupus de inicio tardío

Incentivar futuras investigaciones sobre los determinantes inmunogenéticos en la etiopatogenia del LES y fortalecer la capacidad científica nacional aportando nuevos conocimientos acerca de nuestra población.

Consolidación de los grupos de investigación de la Unidad de Apoyo Especializado de Reumatología de la Universidad Nacional de Colombia, a través de la línea de investigación de Lupus Eritematoso Sistémico

Formación de recurso humano a nivel de la especialidad en Reumatología: Tesis de grado de un estudiante de postgrado, participante como investigador del proyecto.

Publicación de los resultados en una revista científica indexada en *pubmed*, con un buen factor de impacto

Divulgación del Trabajo en el congreso anual del *American College of Rheumatology (ACR)*.

3. Metodología

3.1 Diseño

Estudio de corte transversal en una población de pacientes Colombianos.

3.2 Población

La selección de la población del presente estudio (LES tardío y LES temprano o convencional), se realizó por medio de muestreo por conveniencia de pacientes y sus historias clínicas con diagnóstico reciente o antiguo de LES, asistentes a diferentes servicios de Reumatología en 2 ciudades de Colombia (Bogotá y Barranquilla), durante el período comprendido entre febrero 2010 a Octubre 2011. Los pacientes se incluyeron en forma sucesiva.

3.3 Criterios de Inclusión

Pacientes con diagnóstico de LES según criterios de *ACR* (30, 31); mayores de 18 años, quienes firmaron el consentimiento informado de manera libre y voluntaria, siguiendo las recomendaciones de la Declaración de Helsinki (32).

Se incluyó un grupo denominado de pacientes con LES tardío y otro grupo denominado pacientes con LES temprano o convencional.

El grupo denominado de LES tardío estuvo definido como los pacientes con edad igual o superior a los 50 años, al momento del inicio de las manifestaciones clínicas que llevaron al diagnóstico de LES, según criterios *ACR* (30, 31).

El grupo denominado de LES temprano o convencional estuvo definido como los pacientes con edades comprendidas entre los 18 y los 49 años, al momento del inicio de las manifestaciones clínicas que llevaron al diagnóstico de LES, según criterios ACR (30, 31).

Para el análisis de los resultados de HLA clase II (DRB1), se utilizaron como grupos comparadores de los pacientes con LES tardío, un grupo de pacientes con LES convencional y otro grupo de pacientes mayores de 18 años sin diagnóstico de enfermedad autoinmune, cuyas muestras y caracterización inmunogenética hacen parte del banco de sueros y ADN de la unidad de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.

3.4 Criterios de Exclusión

Mujeres embarazadas y LES inducido por medicamentos.

3.5 Variables Clínicas de Medición

Género, edad actual, edad de inicio de la sintomatología, edad al momento del diagnóstico, presión Arterial en mm Hg, historia clínica (motivo consulta, antecedentes personales y familiares), examen físico con énfasis en: Erupción Malar, Erupción discoide, Fotosensibilidad, Úlceras orales, Artritis, Serositis, trastorno neurológico (convulsiones o psicosis en ausencia de otra causa conocida), fiebre, pérdida de peso, alopecia, pérdida de cabello, Fenómeno de Raynaud, esplenomegalia, linfadenopatías, síntomas secos (33).

3.6 Variables Paraclínicas de Medición

Hemograma automatizado (se consideró Leucopenia recuentos de glóbulos blancos < 4000/mm³, Linfopenia recuento de linfocitos < 1500/mm³ y Trombocitopenia recuento de plaquetas < a 100.000/mm³). Velocidad de Sedimentación Globular (VSG) por método de Westergren (valor anormal > 30 mm/hora). Parcial de Orina (hallazgos anormales:

proteínas mayor de 3+, o cilindros celulares de glóbulos rojos, de hemoglobina, granulares y tubulares). Proteína C Reactiva (PCR) (método de turbidimetría, valor anormal > 5 mg/dL). Aspartato Transaminasa (AST) (medición espectrofotométrica, valor anormal > 40 UI/L). Alanino Transaminasa (ALT) (medición espectrofotométrica, valor anormal > 33 UI/L). Creatinina (prueba colorimétrica cinética, valor anormal hombre adulto > 1,3 mg/dL, valor anormal mujer adulta > 0,9 mg/dL). Nitrógeno Ureico Sanguíneo (BUN) (prueba espectrofotométrica cinética, valor anormal > 20 mg/dL). Glucemia en ayunas (reacción enzimática acoplada a la glucosa oxidasa, valor anormal en ayunas > 126 mg/dL). Anticuerpos Antinucleares (ANAS) por IFI (Inmunofluorescencia Indirecta) con sustrato de células HEp-2 (títulos anormales con diluciones \geq 1:160). Anticuerpos Anti-DNAs por IFI con sustrato de *Crithidia luciliae* (títulos anormales con diluciones \geq 1:10). Anti-Sm, Anti-RNP, Anti-Ro/SS-A, Anti-La/SS-B (ELISA, valores anormales > a 25 UI). Anticoagulante Lúpico (técnica de Veneno de Víbora de Russell, valor anormal presencia de inhibidor), Ig M/Ig G Anti-Cardiolipinas (ELISA, valores anormales > 20 UI GPL). C3 y C4 (medición por nefelometría, valores anormales < 88 mg/dL y 12 mg/dL, respectivamente). Factor Reumatoideo por turbidimetría (valor anormal > 14 UI/L), Radiografía de Tórax postero-anterior y lateral izquierda.

En los pacientes con lupus, se analizaron los alelos HLA-DRB1 a partir del DNA extraído de leucocitos provenientes de una muestra de sangre periférica anticoagulada con EDTA. La tipificación de los alelos HLA-DRB1 se llevó a cabo mediante hibridización SSO en fase líquida utilizando reactivos Gen-Probe (Stanford, CT) y se analizó en el sistema Luminex 100 IS.

3.7 Instrumentos de Registro

Se elaboraron instrumentos de registro, para consignar los datos tanto de los pacientes con LES tardío como de aquellos con LES temprano o convencional, al momento del diagnóstico de la enfermedad. Para cada grupo de variable de medición se construyó un instrumento de registro.

Se creó un banco de sueros y ADN de las muestras tomadas en el presente estudio, en la Unidad de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de

Colombia, teniendo en cuenta las normas vigentes de recolección y almacenamiento de las muestras, las cuales se procesaron en grupo al finalizar el seguimiento para la inmunotipificación del *HLA* clase II (DRB1).

3.8 Análisis Estadístico

El análisis estadístico se realizó usando el paquete Stata 10.0. Se utilizó la prueba de *Shapiro-Wilks* para analizar la distribución de los datos. Las variables continuas con distribución normal se describirán con medias y desviaciones estándar, y las variables con distribución no normal con medianas y percentiles; en ambos casos se informarán los rangos. Se utilizarán las pruebas *t* de Student, *ANOVA* y pruebas no paramétricas para la comparación de variables según fuese apropiado. Se usará la prueba exacta de *Fisher's* o el χ^2 para determinar la fuerza de asociación entre las variables de interés (genes y LES), teniendo en cuenta el número de casos en las tablas de contingencias elaboradas para el análisis de los datos. Si la frecuencia esperada en alguna de las celdas es menor de 5 se utilizará la prueba exacta de *Fisher's*. Se calculará el OR y el intervalo de confianza como medida epidemiológica de la asociación. Un valor de *p* menor de 0.05 se considerará como significativo. Teniendo una prevalencia de 15%, considerando un OR clínico significativo de 3 (para el DRB1), teniendo un nivel de significancia del 95%, un poder de 80% y considerando dos colas, tenemos un *n* de 75 pacientes.

3.9 Costos y Financiación

El presente trabajo de investigación participó y resultó favorecido para su financiación por medio de la *Convocatoria para el Estímulo a la Investigación a través de Proyectos y Trabajos de Investigación en los Posgrados de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia. Apoyo a la Investigación en Salud. Facultad de Medicina y Dirección de Investigación Sede Bogotá 2011*. Código 14020, con un monto de 10.000.000 (diez millones de pesos moneda corriente).

3.10 Consideraciones Éticas

El presente trabajo de investigación fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, mediante acta de aprobación N° 10 del 13 de Junio de 2011.

El estudio se realizó dentro de los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos según la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial.

Se tuvieron en cuenta las normas del Ministerio de Salud de Colombia, resolución 8430 de 1993 en lo concerniente a “la investigación en órganos, tejidos y sus derivados, productos y cadáveres de seres humanos” (Título II, Capítulo VI), “las investigaciones de nuevos recursos profilácticos, de diagnóstico, terapéuticos y de rehabilitación” (título III) y de “la bioseguridad de las investigaciones en lo referente a la investigación con microorganismos patógenos o material biológico” (Título IV Capítulo I).

Se realizó el consentimiento informado (Anexo 1), en idioma castellano en términos claros, para que paciente lo analice con explicación no sesgada por un integrante del grupo de investigación en cada uno de los ítems; una vez receptado su concepto aprobatorio de participación se impartirá una copia al paciente y otra reposará en la historia clínica, las dos con el debido diligenciamiento de la firma del paciente con su cédula de identidad y las firmas con sus respectivas cédulas de identidad de los dos testigos mayores de edad.

Todos los integrantes del grupo de investigación estuvieron dispuestos a dar información sobre el estudio a entes organizados aprobados e interesados en conocerlo, igualmente asumió todas las responsabilidades el grupo investigador.

4. Resultados

Para el análisis de las características clínicas y serológicas, se incluyeron 98 pacientes en el grupo de LES tardío y 72 pacientes en el grupo de LES temprano o convencional. En el grupo de LES tardío la relación mujer a hombre fue 5,5:1 y en el grupo de LES convencional fue 13,4:1 ($p=0,095$) (tabla 1). El tiempo promedio transcurrido entre el inicio de los síntomas de la enfermedad y el momento del establecimiento del diagnóstico fue 1,34 años en el grupo de LES tardío y 1,13 años en el grupo de LES temprano, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas ($p=0,068$) (tabla 1). Entre los antecedentes patológicos del grupo de LES tardío, se encontró una frecuencia de Síndrome Antifosfolípídico (SAF) de 7,2% y Síndrome de Sjögren (SS) de 6,1%, y dentro del grupo de LES convencional para SAF fue 5,5% y para SS de 1,4%, sin hallarse diferencias significativas para cada enfermedad entre ambos grupos ($p=0.761$ y $p=0.241$; respectivamente). La frecuencia de antecedentes familiares de Lupus fue para el grupo de LES tardío de 10,2% y para el grupo de LES convencional 6,9%, sin encontrarse diferencias significativas ($p=0.817$).

Tabla 1. Características Demográficas

	LES Tardío (n=98)	LES Convencional (n=72)	p
Relación Mujer : Hombre	5,5:1	13,4:1	0,095
Edad promedio (años)	61,17	39,16	
Edad al inicio de los síntomas (media)	56,61	29,56	
Edad al momento del diagnóstico (media)	57,94	30,69	
Tiempo transcurrido entre el inicio y el diagnóstico de Lupus (media en años)	1,34	1,13	0,068

En la tabla 2 se muestran las frecuencias encontradas, con respecto a los hallazgos clínicos documentados para LES en la población investigada.

Tabla 2. Frecuencia de los Hallazgos Clínicos en LES

	LES Tardío % (n=98)	LES Convencional % (n=72)	p
Erupción Malar	20,41	33,33	0,057
Erupción Discoide	5,1	5,56	1
Fotosensibilidad	30,61	41,67	0,136
Úlceras Bucales	26,53	31,94	0,441
Artritis	80,61	84,72	0,487
Pleuritis	27,55	8,33	0,002
Pericarditis	13,27	2,78	0,026
Enfermedad Renal	33,67	43,06	0,212
Convulsiones	2,04	11,11	0,019
Trastorno Hematológico	56,12	47,22	0,251
Trastorno Inmunológico	62,24	47,22	0,051
Anticuerpos Antinucleares	100	100	1
Fiebre	10,2	20,83	0,053
Pérdida de Peso	4,08	8,33	0,009
Alopecia	17,35	41,67	<0,001
Fenómeno de Raynaud	10,2	16,67	0,013
Síntomas Secos	34,69	19,44	0,029
Adenopatías	3,09	4,17	0,9

En el grupo de LES tardío hubo una mayor frecuencia de serositis (pleuritis 27,55% y pericarditis 13,27%) con respecto al grupo de LES temprano o convencional (pleuritis 8,33% y pericarditis 2,78%), encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p=0,002$ y $p=0,026$; respectivamente). En el grupo de LES convencional se presentó una frecuencia significativamente mayor de episodios convulsivos atribuibles a actividad de la enfermedad, respecto a LES tardío (11,11% vs 2,04%; $p=0,019$). El hallazgo de Erupción Malar fue mayor en el grupo de LES convencional vs el grupo de LES tardío, sin alcanzar

diferencias significativas (33,33% vs 20,41%; $p=0,057$). Se encontró una tendencia en los pacientes con LES tardío, a presentar mayores trastornos inmunológicos (presencia de anti-DNA y/o anti-Sm y/o anticuerpos antifosfolípidos) en comparación con los sujetos de LES convencional (62,24% vs 47,22%; $p=0,051$). La pérdida de peso ($p=0,009$), la alopecia ($p<0,001$) y el fenómeno de Raynaud ($p=0,013$) estuvieron presentes con mayor frecuencia en el grupo de LES convencional y los síntomas secos ($p=0,029$) fueron más frecuentes en el grupo de LES tardío (tabla 2).

En la tabla 3 se muestran las frecuencias de los hallazgos de laboratorios anormales en la población analizada. La linfopenia (68,82% vs 47,89%; $p=0,007$), la elevación de la velocidad de sedimentación globular (VSG) (52,04% vs 26,39%; $p=0,002$), el aumento en los valores proteína C reactiva (PCR) (31,25% vs 11,11%; $p=0,001$) y mayores títulos de factor reumatoide (21,43% vs 2,78%; $p=0,001$) se encontraron significativamente más elevados en los pacientes con LES tardío vs los individuos con LES convencional respectivamente (tabla 3).

Tabla 3. Frecuencia de Hallazgos Paraclínicos anormales en LES

	LES Tardío % (n=98)	LES Convencional % (n=72)	p
Leucopenia (< 4.000/mm ³)	36,73	34,72	0,908
Linfopenia (<1.500/mm ³)	68,82	47,89	0,007
Trombocitopenia (< 100.000/mm ³)	12,5	11,27	0,808
VSG (> 30 mm/h)	52,04	26,39	0,002
PCR (> 5 mg/dL)	31,25	11,11	0,001
Anti-DNA (> 1/10)	38,78	43,06	0,851
Anti-Ro (> 25 UI)	39,8	23,61	0,06
Anti-La (> 25 UI)	12,24	11,11	0,897
Anti-Sm (> 25 UI)	15,31	25	0,197
Anti-RNP (> 25 UI)	14,29	23,61	0,203
Ig G anticardiolipinas (> 20 UI)	13,27	19,44	0,154
Ig M anticardiolipinas (> 20 UI)	11,22	15,28	0,452
Anticoagulante lúpico (positivo)	8,16	4,17	NS
C3 (< 88-140 mg/dL)	35,71	30,56	0,788
C4 (< 12-72 mg/dL)	34,69	27,78	0,609
Factor Reumatoide (> 14 UI/mL)	21,43	2,78	0,001

Para el análisis del HLA clase II (DRB1), se realizó la respectiva genotipificación en 62 muestras de pacientes con LES tardío, 105 muestras de pacientes con LES convencional y 179 muestras de pacientes sin enfermedad autoinmune. En la tabla 4 se muestran los resultados de las frecuencias de los alelos DR entre los pacientes con LES tardío y los individuos sin enfermedad autoinmune. El alelo más frecuente en ambos grupos es el DR4, pero sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los mismos. El Alelo DR17 (DR3) se encontró con mayor frecuencia en el grupo de pacientes con LES tardío vs el grupo de sujetos sin enfermedad autoinmune, diferencia que es significativa (OR 3,81- IC 95%: 1,47-10,59) ($p=0,0016$). El alelo DR8 presentó una mayor tendencia a encontrarse en el grupo de pacientes sin enfermedad autoinmune (OR 0,36 – IC 95%: 0,10-1,02) ($p=0,0404$).

Tabla 4. Frecuencia de Alelos DR entre LES Tardío y Controles sin Enfermedad Autoinmune

Alelos	Pacientes LES Tardío - (# alelos)		Pacientes sin enfermedad autoinmune - (# alelos)		OR	IC 95%		p
	#	Frecuencia	#	Frecuencia				
DR1	8	0,0656	20	0,0952	0.66	0.24	1,64	0.3484
DR15	18	0,1475	20	0,0952	1,64	0.78	3,42	0.1490
DR16	4	0,0328	8	0,0381	0.85	0.18	3,27	0.8027
DR17	16	0,1311	8	0,0381	3.81	1.47	10.59	0.0016
DR18	0	0	1	0,0048				
DR4	28	0,2295	49	0,2333	0.97	0.55	1.71	0.93
DR11	8	0,0656	13	0,0619	1.06	0.37	2.86	0.89
DR12	2	0,0164	5	0,0238	0.68	0.06	4.25	0.65
DR13	12	0,0984	18	0,0857	1.16	0.49	2.66	0.69
DR14A	3	0,0246	7	0,0333	0.73	0.11	3.28	0.65
DR14B	5	0,041	7	0,0333	1.23	0.30	4.64	0.71
DR10	2	0,0164	4	0,019	0.85	0.07	6.09	0.86
DR7	10	0,082	25	0,119	0.66	0.27	1.49	0.28
DR8	5	0,041	22	0,1048	0.36	0.10	1.02	0.0404
DR9	1	0,0082	3	0,0143	0.57	.01	7.20	0.62

En la tabla 5 se muestran los resultados de las frecuencias de los alelos DR entre pacientes con LES tardío y los sujetos con LES convencional. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de frecuencias de los 15 alelos genotificados entre pacientes con LES tardío vs LES temprano o convencional.

Tabla 5. Frecuencia de Alelos DR entre LES Tardío y LES Convencional

Alelos	Pacientes LES Tardío - (# alelos)		Controles LES convencional - (# alelos)		OR	IC 95%		p
	#	Frecuencia	#	Frecuencia				
DR1	8	0,0656	15	0,0711	0,92	0,33	2,38	0,84
DR15	18	0,1475	28	0,1327	1,13	0,56	2,24	0,71
DR16	4	0,0328	6	0,0284	1,16	0,24	4,99	0,82
DR17	16	0,1311	31	0,1469	0,87	0,43	1,74	0,69
DR18	0	0	1	0,0047				
DR4	28	0,2295	41	0,1943	1,24	0,68	2,19	0,44
DR11	8	0,0656	10	0,0474	1,41	0,47	4,09	0,48
DR12	2	0,0164	2	0,0095	1,74	0,13	24,27	0,57
DR13	12	0,0984	21	0,0995	0,98	0,43	2,19	0,97
DR14A	3	0,0246	4	0,0190	1,31	0,18	7,85	0,73
DR14B	5	0,041	5	0,0237	1,76	0,39	7,81	0,37
DR10	2	0,0164	2	0,0095	1,74	0,13	24,27	0,57
DR7	10	0,082	22	0,1043	0,76	0,31	1,76	0,51
DR8	5	0,041	20	0,0948	0,41	0,12	1,16	0,072
DR9	1	0,0082	3	0,0142	0,57	0,01	7,24	0,63

5. Discusión

Para el clínico el Lupus es un reto diagnóstico, debido a que es una enfermedad con múltiples formas de presentación y puede ser fácilmente confundida con otros trastornos. Lo anterior tiene mayor importancia en el LES tardío porque las manifestaciones clínicas de la enfermedad pueden variar en comparación con los pacientes más jóvenes. El presente trabajo de investigación analiza las características clínicas, de laboratorio e inmunogenéticas, de una muestra de pacientes colombianos con LES tardío.

En el grupo de LES tardío investigado, se encontró una mayor frecuencia de la enfermedad en mujeres pero con una relación mujer:hombre menor a la encontrada en el grupo de LES convencional, sin que esta disminución alcanzara diferencia estadística. El anterior hallazgo es similar a lo reportado por otros autores que han abordado el tema (3, 19, 20). Esta es una de las primeras características clínicas a tener en cuenta en la población mayor de 50 años, asociada a una probable disminución de la influencia hormonal en los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad, lo cual podría modificar la forma de presentación clínica y la incidencia del LES en este grupo de edad (34, 35). Sin embargo, lejos de tranquilizar al clínico sobre una aparente disminución de la prevalencia de la enfermedad en la población mayor, según lo reportado en la literatura médica (3, 4, 21), debe alertarlo a buscar variantes en la presentación de la enfermedad que puedan no ser reconocidas de forma oportuna (9).

El tiempo transcurrido entre el inicio de los síntomas de la enfermedad y el establecimiento del diagnóstico de LES en los grupos analizados, no presentó diferencias estadísticamente significativas. Pero es llamativo, que en promedio pase más de un año para llegar al diagnóstico de una enfermedad potencialmente fatal. Aunque el presente trabajo de investigación no evalúa los procesos de detección y diagnóstico del LES en la población estudiada, lo anterior puede sugerir un llamado a los servicios de salud respectivos, a evaluar dichos procesos en el marco de la atención en salud.

La frecuencia de antecedentes familiares de Lupus en el grupo de LES tardío fue 10,2% y en el grupo de LES temprano o convencional fue 6,9%, cifras similares a lo reportado en otros estudios que informan valores entre 3,9% y 10,4% (36, 37). Lo anterior, probablemente relacionado al carácter de agregabilidad familiar y susceptibilidad genética de la enfermedad (36).

Los hallazgos clínicos encontrados en el presente estudio, significativamente más altos en el grupo de LES tardío vs el grupo de LES convencional fueron la pleuritis, la pericarditis y los síntomas secos. Este hallazgo es consistente con lo reportado por varios autores, quienes identifican a la serositis y principalmente el compromiso pulmonar por pleuritis, como una de las manifestaciones más frecuentes en la población de Lupus de inicio tardío comparada con Lupus en edades más tempranas (5, 7, 13, 20). Los síntomas secos al igual que en nuestro trabajo, también son reportados con más frecuencia por algunos autores, en pacientes con LES tardío (6, 7, 20, 38). Dado lo anterior, el clínico debería tener en mente, que los pacientes mayores de 50 años con Lupus, probablemente tengan una mayor asociación clínica con pleuritis y síntomas secos. En la presente investigación no se encontraron diferencias en la frecuencia de síndrome de Sjögren entre el grupo de LES tardío y el grupo de LES convencional; sin embargo, otros autores han sido consistentes en reportar una mayor frecuencia de Sjögren en sus poblaciones con LES de inicio tardío (10, 17, 20). En el paciente mayor, se requiere un apropiado y amplio abordaje diagnóstico de los síntomas secos, los cuales pueden estar asociados a múltiples causas como la polifarmacia, enfermedades crónicas debilitantes o la desnutrición y no solamente con el síndrome de Sjögren.

Uno de los criterios diagnósticos recomendados por la *American College of Rheumatology* para el diagnóstico de LES, es la presencia de trastorno neurológico (convulsiones o psicosis) no explicados por otra causa (30, 31). En la presente investigación, se encontró en el grupo de LES convencional una frecuencia significativamente mayor de episodios convulsivos atribuibles a actividad de la enfermedad, respecto a pacientes con LES tardío. Este hallazgo concuerda con los trabajos de Baker y Ward (5, 20). Aunque se debe mencionar, que deberían evaluarse muchos otros aspectos neuropsiquiátricos asociados al LES (depresión, trastornos del afecto, deterioro cognoscitivo) que pueden ser difíciles de discernir de otras condiciones asociadas al grupo etario (39).

La pérdida de peso, la alopecia y el fenómeno de Raynaud se presentaron con mayor frecuencia en el grupo control. Hallazgos que son coincidentes en los reportes de las investigaciones de Cattogio, Maddison y Ward (6, 10, 20). Tales hallazgos, pueden estar asociados como manifestaciones frecuentes de la enfermedad en pacientes jóvenes, y ser de utilidad para la práctica médica.

En cuanto al análisis de los resultados del laboratorio clínico, en el grupo de LES tardío se encontró una mayor frecuencia de linfopenia y títulos elevados de factor reumatoideo. Pocos trabajos reportan el compromiso hematológico como variable de mayor frecuencia en los pacientes con LES tardío. Appenzeller reporta la anemia hemolítica y la trombocitopenia como más frecuente en LES de inicio tardío (8) y Lalani no encuentra diferencias entre los grupos al comparar la linfopenia y la trombocitopenia (14). En cuanto al factor reumatoideo, la mayoría de publicaciones coinciden en señalar su alta frecuencia en pacientes con LES de inicio tardío (6, 7, 10, 13). Sin embargo, se debe señalar que este constituye un hallazgo no específico, probablemente relacionado con el aumento de la prevalencia de la positividad del factor reumatoideo en la población anciana.

La presente investigación no encontró diferencias en cuanto al perfil de auto-anticuerpos en los dos grupos analizados. Al respecto, los reportes en la literatura son variados. Appenzeller y Font reportan una menor frecuencia de anti-Ro en LES tardío (8, 40), mientras que Cattogio y Maddison reportan lo contrario en sus poblaciones de LES en el anciano (6, 10).

La asociación del Lupus con los genes HLA del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) es bien conocida. Los genes del CMH determinan cuáles moléculas del complejo están disponibles para que los antígenos puedan ser presentados y reconocidos por las células T; por esta razón, los genes HLA del CMH están asociados con un riesgo de respuesta inmune a determinados autoantígenos, aumentando el riesgo de enfermedades como el Lupus (41). El HLA-DR2 y el HLA-DR3 han sido consistentemente asociados con LES (42, 43). En la presente investigación, el alelo DR17 (DR3) se encontró con mayor frecuencia en el grupo de pacientes con LES tardío, en comparación con el grupo de sujetos sin enfermedad autoinmune, diferencia que fue significativa y que es coincidente con las publicaciones de susceptibilidad genética para todos los grupos de LES (27, 28, 42, 43). Hubo una tendencia no significativa en el alelo DR8, a estar

disminuido en el grupo de LES tardío en comparación con los grupos de pacientes sin enfermedad autoinmune y de LES convencional, lo que podría asociarse como un potencial factor protector a desarrollar LES tardío, lo cual puede ser motivo de futuros estudios. Debido al carácter poligénico del LES, deberían llevarse a cabo investigaciones incluyendo Polimorfismos de Nucleótido Simple (*SNPs*), en otras regiones cromosómicas implicadas en la inmunogenética de la enfermedad.

La actual investigación presenta algunas debilidades, es retrospectiva en la direccionalidad y para el análisis del HLA no se contó con el número suficiente de pacientes con LES tardío, debido a su baja frecuencia en la población. Sin embargo, los resultados permiten obtener conclusiones que son importantes para la práctica clínica. La población colombiana analizada con Lupus de inicio tardío, tiene una probable asociación de presentar con mayor frecuencia pleuritis, pericarditis, síntomas secos, linfopenia y mayores títulos de factor reumatoideo. La población colombiana estudiada con LES de inicio temprano o convencional, tuvo una mayor frecuencia de convulsiones, pérdida de peso, alopecia y fenómeno de Raynaud. En el grupo analizado con LES tardío, el alelo HLA DR17 (DR3) probablemente está más relacionado con los sujetos enfermos de LES, en comparación con individuos sin enfermedad autoinmune.

A. Anexo: Consentimiento Informado

Caracterización Clínica, Serológica e Inmunogenética de Lupus Eritematoso Sistémico de Inicio Tardío, en pacientes Colombianos

Se le invita a participar en un estudio de investigación. Es necesario que decida si participará o no en el estudio. Tome el tiempo que sea necesario para decidirse. Lea cuidadosamente este formulario y realice cualquier pregunta que considere pertinente. Este estudio es llevado a cabo por el Servicio de Reumatología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional

¿Qué pacientes se incluirán en este estudio?

Todos aquellos pacientes que cumplan con las siguientes características:

- ✓ Hombres o mujeres mayores de 18 años de edad
- ✓ pacientes con diagnóstico de Lupus según criterios de *American College of Rheumatology (ACR)* (31, 32).
- ✓ Pacientes que estén absolutamente de acuerdo con el ingreso al estudio y que hayan firmado el respectivo consentimiento informado.

¿Cuál es el propósito del estudio?

Determinar las diferencias clínicas y de laboratorio al momento del diagnóstico, entre pacientes Colombianos con Lupus de inicio tardío versus enfermos con Lupus de inicio en edades más tempranas.

¿Quiénes no deben participar en el estudio?

Todas las personas que cambien de domicilio permanentemente o aquellos pacientes en los cuales sea difícil hacer un seguimiento.

¿Qué se me pedirá que haga? ¿Cuáles son los requerimientos?

El médico o el personal del estudio le preguntarán acerca de su historia médica, especialmente lo relacionado con el inicio del Lupus, cuáles fueron los primeros síntomas, cuánto duraron, y los medicamentos que ha recibido. Los datos se consignarán en un formulario diseñado para tal fin.

En la primera visita se le pedirá al paciente que acuda a la Universidad Nacional de Colombia (Facultad de Medicina) para que se le tome una muestra de sangre, la cual será recolectada en 2 tubos de ensayo, cada uno con 10 cc de capacidad. Es decir se tomarán 20 cc de sangre en total.

Esta sangre será almacenada en una nevera especial con el único objetivo de realizar los análisis que son objetivos del estudio. El análisis de la sangre puede tardar hasta 6 meses aproximadamente por lo cual la sangre puede permanecer almacenada durante este tiempo. Posterior al análisis, la muestra será descartada (desechada). No se llevará a cabo ninguna acción diferente con esta muestra sangre. Es decir no se mezclará, no se distribuirá y no se conservará más allá del tiempo que pueda tardar el análisis.

No se está ensayando ningún medicamento en este estudio.

Se realizará un seguimiento periódico de cada paciente, para evaluar la evolución de su enfermedad.

¿Cuánto tiempo participaré en el estudio?

El tiempo de duración en el estudio es de 12 meses. Se empieza a contar cuando se tome la muestra de sangre y se llenen los primeros datos y finalizará luego de este periodo pre-establecido.

¿Cuántas personas más participarán en el estudio?

Todas las personas que acepten ingresar al estudio. Aproximadamente se calculan 75 personas en total.

¿Qué efectos adversos (malos o peligrosos) pueden ocurrirme al participar en este estudio?

Por su participación en el estudio, la probabilidad de presentar algún efecto adverso es muy baja. De hecho, en este estudio no se está ensayando o evaluando ningún tratamiento en particular. No obstante, se puede presentar como efecto adverso alguna complicación relacionada con la toma de la muestra de sangre. Entre estas complicaciones se incluye el dolor que produce la aguja, el riesgo de infección en el área de la muestra y el riesgo de contaminación con productos sanguíneos. Cada uno de estos efectos adversos será registrado por el grupo de estudio y el paciente recibirá el tratamiento médico pertinente.

Estos efectos adversos se presentan en un número muy reducido de pacientes y aunque pueden ser graves, la seguridad aumenta con un buen control de la enfermedad, supervisión médica continua y si es necesario cambios en el tratamiento.

¿Qué beneficio puedo esperar?

No habrá beneficio directo al participar en el estudio diferente al que pueda proporcionar el tratamiento instaurado.

Al establecer los factores que determinan la enfermedad y que tienen importancia en su desarrollo se tendrá una herramienta importante para tratar de una manera más adecuada a los pacientes con Lupus tardío en Colombia.

¿Quién podrá ver los registros y saber que participo en el estudio?

Si usted decide participar en el estudio su nombre se mantendrá en absoluta reserva, salvo que la ley lo exija. Sólo el médico, el personal del estudio y el comité de ética tendrán acceso directo a los registros médicos para verificar la información del estudio.

¿A quién debo llamar en caso de tener alguna pregunta?

Para atender las inquietudes que pueden generarse a través del estudio, el comité de ética médica del estudio estará dispuesto a atender consultas y en caso necesario a dirigirlo con la persona indicada en situaciones más específicas. Igualmente puede acudir al médico que le pidió participar en el estudio. En caso de no encontrarse disponible podrá comunicarse con un coautor del estudio el Dr. Édgar Alfonso Peñaranda Parada del Servicio de Reumatología de la Universidad Nacional de Colombia (teléfono celular 3138012401 y dirección electrónica edgaralpp@yahoo.es)

¿Puedo rehusarme a participar en el estudio? ¿Qué implicaciones tendría si decido retirarme del estudio en cualquier momento?

Su participación en este estudio es voluntaria. Puede ingresar al estudio si está de acuerdo y así mismo puede retirarse en cualquier momento. Es importante aclarar que independiente de la continuidad en el estudio usted NO perderá ninguno de los derechos que tiene como paciente. Tampoco se le impedirá que participe en algún estudio posterior, en caso que se planteará esa posibilidad.

En este estudio se guardará la confidencialidad en todo momento.

Usted recibirá una copia firmada de este consentimiento informado.

Firma paciente

Firma testigo

B. Anexo: Instrumento 1. Variables Clínicas y Criterios de LES

Instrumento 1. Variables Clínicas y Criterios de LES

N°							
Género							
Edad Actual (años)							
Edad Inicio Síntomas							
Edad Dx Lupus							
Motivo Consulta							
Antecedentes Personales							
Antecedentes Familiar							
P. Arterial mm/Hg							
E. Malar							
E. Discoide							
Fotosensb							
U. orales							
Artritis							
Serositis							
Enf. Renal							
Enf. Neuro							
Alt. Hemato							
Alt. Inmuno							
ANAS							
Fiebre							
↓ peso							
↓ cabello							
F. Raynaud							
S. Secos							
Adenopatías							
Otros							
Otros							

C. Anexo: Instrumento 2. Variables Paraclínicas

Instrumento 2. Variables Paraclínicas

N°						
Blancos						
Neutrófilos						
Linfocitos						
Hemoglobina						
Hematocrito						
Plaquetas						
VSG mm/h						
PCR mg/dL						
P. Orina						
BUN						
Creatinina						
AST						
ALT						
Glucemia						
ANAS patrón						
ANAS Dilución						
Anti-DNA						
Anti-Ro						
Anti-La						
Anti-Sm						
Anti-RNP						
Ig G AC						
Ig M AC						
ACL						
C3						
C4						
FR						
Rx Tórax						

Bibliografía

- (1). Gary S. Firestein, Ralph C. Budd, Edward D. Harris, Iain B. McInnes, Shaun Ruddy, John S. Sergent. *Kelley's Textbook of Rheumatology*, 8th ed, 2008.
- (2). Donato Alarcón Segovia, Javier Molina L. *Tratado Hispanoamericano de Reumatología*. 1 Edición, 2006.
- (3). Rovenský J, Tuchynová A. Systemic lupus erythematosus in the elderly. *Autoimmun Rev*. 2008 Jan;7(3): 235-9.
- (4). Maddison PJ. Systemic lupus erythematosus in the elderly. *J Rheumatol* 1987;14 (suppl 13): 182-7.
- (5). Baker SB, Rovira JR, Campion EW, Mills JA. Late onset systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1979 May; 66(5): 727-32.
- (6). Catoggio LJ, Skinner RP, Smith G, Maddison PJ. Systemic lupus erythematosus in the elderly: clinical and serological characteristics. *J Rheumatol* 1984; 11(2): 175-181.
- (7). Wilson HA, Hamilton ME, Spyker DA, et al. Age influences the clinical and serological expression of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1981;24: 1230-5.
- (8). Appenzeller S, Pereira DA, Costallat LT. Greater accrual damage in late-onset systemic lupus erythematosus: a long-term follow-up study. *Lupus*. 2008 Nov;17(11):1023-8.
- (9). Formiga F, Moga I, Pac M, Mitjavila F, Rivera A, Rujol R. Mild presentation of systemic lupus erythematosus in elderly patients assessed by SLEDAI. *SLE Disease Activity Index*. *Lupus* 1999; 8(6): 462-5.
- (10). Maddison P, Farewell V, Isenberg D, et al. The rate and pattern of organ damage in late onset systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2002;29: 913-7.
- (11). Bertoli AM, Alarcón GS, Calvo-Alen J, Fernandez M, Vila LM, Reveille JD. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort. XXXIII. Clinical [corrected] features, course, and outcome in patients with late-onset disease. *Arthritis Rheum* 2006;54:1580-7.
- (12). Pons-Estel GJ, Alarcón GS, Scofield L, Reinlib L, Cooper GS. Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum*. 2010 Feb; 39(4): 257-68.
- (13). Boddaert J, Huong DL, Amoura Z, Wechsler B, Godeau P, Piette JC. Late-onset systemic lupus erythematosus: a personal series of 47 patients and pooled analysis of 714 cases in the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2004 Nov;83(6):348-59.
- (14). Lalani S, Pope J, de Leon F, Peschken C; Members of CaNIOS/1000 Faces of Lupus. Clinical features and prognosis of late-onset systemic lupus erythematosus: results from the 1000 faces of lupus study. *J Rheumatol*. 2010 Jan;37(1):38-44.
- (15). Karoubi Nordon E, Hayem G, Mentres F, Palazzo E, Legrain S, Meyer O, Raveau P. Late onset systemic lupus erythematosus: a new approach. *Lupus*. 2007;16 (12):1011-4.

- (16). Belostocki KB, Paget SA. Inflammatory rheumatologic disorders in the elderly. *Postgrad Med* 2002;111:72–83.
- (17). Wilson HA, Hamilton ME, Spyker DA, et al. Age influences the clinical and serological expression of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1981;24:1230–5.
- (18). Padovan M, Govoni M, Castellino G, Rizzo N, Fotinidi M, Trotta F. Late onset systemic lupus erythematosus: no substantial differences using different cut-off ages. *Rheumatol Int*. 2007 Jun;27(8):735-41.
- (19). Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, Doménech I, Aydintug AO, Jedryka-Góral A, de Ramón E, et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunologic patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine (Baltimore)*. 1993 Mar;72(2):113-24.
- (20). Ward MM, Polisson RP. A meta-analysis of the clinical manifestations of older-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1989 Oct;32(10):1226-32.
- (21). Kammer GM, Mishra N. Systemic lupus erythematosus in the elderly. *Rheum Dis Clin North Am*. 2000 Aug;26(3):475-92.
- (22). Wong M., Tsao B.P.: Current topics in human SLE genetics. *Springer Semin Immunopathol* 2006; 28:97-107.
- (23). Deapen D, Escalante A, Weinrib L, Horwitz D, Bachman B, Roy-Burman P, Walker A, Mack TM. A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1992 Mar;35(3):311-8.
- (24). Criswell LA. The genetic contribution to systemic lupus erythematosus. *Bull NYU Hosp Jt Dis*. 2008;66(3):176-83.
- (25). Horton R, Wilming L, Rand V, Lovering RC, Bruford EA, Khodiyar VK, Lush MJ, Povey S, Talbot CC Jr, Wright MW, Wain HM, Trowsdale J, Ziegler A, Beck S. Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet*. 2004 Dec;5(12):889-99.
- (26). Walport MJ. Complement and systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res*. 2002;4 (Suppl 3):S279-93.
- (27). Graham RR, Ortmann WA, Langefeld CD, Jawaheer D, Selby SA, Rodine PR, Baechler EC, Rohlf KE, Shark KB, Espe KJ, Green LE, Nair RP, Stuart PE, Elder JT, King RA, Moser KL, Gaffney PM, Bugawan TL, Erlich HA, Rich SS, Gregersen PK, Behrens TW. Visualizing human leukocyte antigen class II risk haplotypes in human systemic lupus erythematosus. *Am J Hum Genet*. 2002 Sep;71(3):543-53.
- (28). Graham RR, Ortmann W, Rodine P, Espe K, Langefeld C, Lange E, Williams A, Beck S, Kyogoku C, Moser K, Gaffney P, Gregersen PK, Criswell LA, Harley JB, Behrens TW. Specific combinations of HLA-DR2 and DR3 class II haplotypes contribute graded risk for disease susceptibility and autoantibodies in human SLE. *Eur J Hum Genet*. 2007 Aug;15(8):823-30.
- (29). Fernando MM, Stevens CR, Sabeti PC, Walsh EC, McWhinnie AJ, Shah A, Green T, Rioux JD, Vyse TJ. Identification of two independent risk factors for lupus within the MHC in United Kingdom families. *PLoS Genet*. 2007 Nov;3(11):e192.
- (30). Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi, AT. The 1982 Revised criteria for the classification of SLE. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-127.
- (31). Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology Revised Criteria for the classification of SLE. *Arth Rheum* 1997; 40: 1725.
- (32). Rickham PP. Human Experimentation. Code of Ethics of The World Medical Association. Declaration of Helsinki. *Br Med J*. 1964 Jul 18;2(5402):177.

- (33). Vitali C, Bombardieri S, Jonsson R, Moutsopoulos HM, Alexander EL, Carsons SE, Daniels TE, Fox PC, Fox RI, Kassan SS, Pillemer SR, Talal N, Weisman MH; European Study Group on Classification Criteria for Sjögren's Syndrome. Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group. *Ann Rheum Dis*. 2002 Jun;61(6):554-8.
- (34). Mason LJ, Isenberg D. The pathogenesis of systemic lupus erythematosus. In: Davidson AM, Cameron JS, Grunfeld JP, et al., eds. Oxford textbook of clinical nephrology. Oxford, England: Oxford University Press, 2005:809-29.
- (35). Buyon JP, Petri MA, Kim MY, et al. The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2005;142:953-62.
- (36). Hochberg MC, Florsheim F, Scott J et al. Familial aggregation of systemic lupus erythematosus. *Am J Epidemiol* 1985;122: 526-31.
- (37). Lawrence JS, Martins L, Drake G. A family survey of lupus erythematosus: I. Heritability. *J Rheumatol* 1987;14: 913- 21.
- (38). Ho CT, Mok CC, Lau CS, Wong RW. Late onset systemic lupus erythematosus in southern Chinese. *Ann Rheum Dis*. 1998 Jul;57(7):437-40.
- (39). Gaviria LM, Rodelo JR, Uribe O, Vásquez G, Ramírez LA. Características clínicas y serológicas de los pacientes con LES de inicio tardío en una población colombiana. *Revista Colombiana de Reumatología* 2007 Mar;Vol 14(1): 23-31.
- (40). Font J, Pallarés, L, Cervera R, López-Soto A, Navarro, M. Systemic Lupus Erythematosus in the Elderly: Clinical and immunological characteristics. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 702-705.
- (41). Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2008 Feb 28; 358(9):929-39.
- (42). Graham RR, Ortmann WA, Langefeld CD, Jawaheer D, Selby SA, Rodine PR, et al. Visualizing human leukocyte antigen class II risk haplotypes in human systemic lupus erythematosus. *Am J Hum Genet* 2002;71: 543–53.
- (43). Castro J, Balada E, Ordi-Ros J, Vilardell-Tarrés M. The complex immunogenetic basis of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2008 May;7(5):345-51.