

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

**“TIPIFICACIÓN DE LOS GENES DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO  
HUMANO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO”**

Estudio descriptivo transversal realizado en pacientes adultos que asisten a  
la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de  
Dios

**WILLIAM DAVID OJEDA AGREDA**

**Médico y Cirujano**

**Guatemala, septiembre 2020**



El infrascrito Decano y el Coordinador de la Coordinación de Trabajos de Graduación –COTRAG-, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, hacen constar que:

El estudiante:

1. WILLIAM DAVID OJEDA AGREDA 201110287 241856744 0101

Cumplió con los requisitos solicitados por esta Facultad, previo a optar al título de Médico y Cirujano en el grado de licenciatura, y habiendo presentado el trabajo de graduación titulado:

**TIPIFICACIÓN DE LOS GENES DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO**

Estudio descriptivo transversal realizado en pacientes adultos que asisten a la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios, 2020

Trabajo asesorado por la Dra. Mayra Elizabeth Cifuentes Alvarado, revisado por el Dr. César Oswaldo García García, quienes avalan y firman conformes. Por lo anterior, se emite, firman y sellan la presente:

**ORDEN DE IMPRESIÓN**

En la Ciudad de Guatemala, el veinticinco de septiembre del dos mil veinte



Dr. C. César Oswaldo García García  
Coordinador



Dr. Jorge Fernando Orellana Oliva  
DECANO

Vo.Bo.  
Dr. Jorge Fernando Orellana Oliva  
Decano



El infrascrito Coordinador de la COTRAG de la Facultad de Ciencias Médicas, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, HACE CONSTAR que el estudiante:

1. WILLIAM DAVID OJEDA AGREDA 201110287 241856744 0101

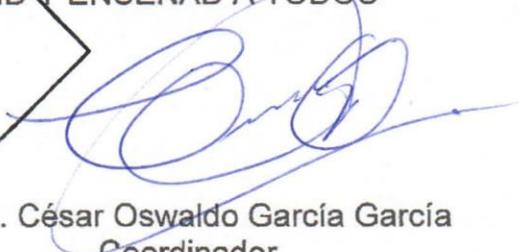
Presentó el trabajo de graduación titulado:

TIPIFICACIÓN DE LOS GENES DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO  
HUMANO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Estudio descriptivo transversal realizado en pacientes adultos que asisten a la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios, 2020

El cual ha sido revisado y aprobado como profesor de esta Coordinación: Dr. César Oswaldo García García y, al establecer que cumple con los requisitos establecidos por esta Coordinación, se le **AUTORIZA** a continuar con los trámites correspondientes para someterse al Examen General. Dado en la Ciudad de Guatemala, el veinticinco de septiembre del año dos mil veinte.



  
Dr. C. César Oswaldo García García  
Coordinador



Guatemala, 25 de septiembre del 2020

Doctor  
César Oswaldo García García  
Coordinador de la COTRAG  
Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Presente

Dr. García:

Le informo que yo:

1. WILLIAM DAVID OJEDA AGREDA



Presenté el trabajo de graduación titulado:

TIPIFICACIÓN DE LOS GENES DEL ANTÍGENO LEUCOCITARIO  
HUMANO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Estudio descriptivo transversal realizado en pacientes adultos que asisten a la consulta  
externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios, 2020

Del cual el asesor y el revisor se responsabilizan de la metodología, confiabilidad y  
validez de los datos, así como de los resultados obtenidos y de la pertinencia de  
las conclusiones y recomendaciones propuestas.

FIRMAS Y SELLOS PROFESIONALES

Asesora: Dra. Mayra Elizabeth Cifuentes Alvarado

Revisor: Dr. César Oswaldo García García

Reg. de personal: 97-0248



-----  
DRA. MAYRA E. CIFUENTES  
MEDICO Y CIRUJANO  
COL. 5914



-----  
Dr. César O. García G.  
Médico y Cirujano  
Colegiado 5930



## **Agradecimientos Especiales**

A mis padres, Cesar Augusto Ojeda Contreras y Julia Agreda Palacios, por su incondicional apoyo en todas las fases de mi carrera, por su paciencia y el esfuerzo que realizaron para tener todo lo que necesario para mis estudios.

A la Dra. Mayra Elizabeth Cifuentes Alvarado, por haber hecho lo que esta fuera de sus deberes, haberme brindado la oportunidad de seguir en este camino, ser una gran maestra, tutora y sobre todo una persona ejemplar.

A el Dr. Cesar Oswaldo García García, por haberme guiado en el proceso de realización de este trabajo de graduación.

A la Facultad de Ciencias Medicas por brindarme los conocimientos necesarios para mi formación profesional durante estos años.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por permitirme egresarme como profesional.

Al Hospital General San Juan de Dios por permitirme realizar mi practica médica, brindarme los conocimientos necesarios para mi formación, y la oportunidad de realizar mi trabajo de investigación en sus instalaciones.



### **De la responsabilidad del trabajo de graduación:**

El autor o autores, es o son los únicos responsables de la originalidad, validez científica, de los conceptos y de las opiniones expresados en el contenido del trabajo de graduación. Su aprobación en manera alguna implica responsabilidad para la Coordinación de Trabajos de Graduación, la Facultad de Ciencias Médicas y la Universidad de San Carlos de Guatemala. Si se llegara a determinar y comprobar que se incurrió en el delito de plagio u otro tipo de fraude, el trabajo de graduación será anulado y el autor o autores deberá o deberán someterse a las medidas legales y disciplinarias correspondientes, tanto de la Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de San Carlos de Guatemala y, de las otras instancias competentes, que así lo requieran.



## RESUMEN

**OBJETIVO:** Tipificar los genes del Antígeno Leucocitario Humano en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico que acuden a la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios en el año 2019. **POBLACIÓN Y MÉTODOS:** Estudio descriptivo transversal, no probabilístico por conveniencia en 50 pacientes con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico, se utilizó la técnica PCR Luminex en una muestra de sangre, el cual conto con el aval del Comité de Bioética en Investigación en Salud de la Facultad de Ciencias Médicas. **RESULTADOS:** Los pacientes fueron de sexo femenino 94% (48), edad media de 33 años  $\pm$  11 DE, etnia no indígena 60% (30), exantema malar 76% (38), artritis 72% (36), fotosensibilidad 72% (36), hipocomplementemia 88% (44), anemia 86% (43), trombocitopenia 86% (43), anti-DNA 82% (41), anti-sm 80% (40), FANA 48% (24), HLA-DQA1\*01 48% (24), HLA-DRB1\*04 44% (22), HLA-A\*02 44% (22), HLA-B\*35 22% (11). **CONCLUSIÓN:** En los 50 pacientes que se estudiaron los genes de CMH II, de las moléculas de HLA en el Hospital General San Juan de Dios, se obtuvo la presencia del gen HLA-DQA1\*01 en 5 de cada 10 pacientes, seguido por HLA-DRB1\*04 y HLA-A\*02 en 4 de cada 10 pacientes.

**Palabras clave:** Antígenos HLA, Lupus Eritematoso Sistémico, Fenotipo, Alelos.



## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. MARCO DE REFERENCIA.....	3
2.1 Marco de antecedentes .....	3
2.1.1 Nivel mundial.....	3
2.1.2 Latinoamérica .....	3
2.2 Marco referencial .....	4
2.2.1 Complejo Mayor de Histocompatibilidad .....	4
2.2.1.1 Clasificación y nomenclatura .....	4
2.2.2 Autoinmunidad .....	6
2.2.3 Lupus eritematoso sistémico .....	7
2.2.3.1 Patogenia .....	7
2.2.3.2 Genética .....	8
2.2.3.3 Manifestaciones clínicas .....	9
2.2.3.4 Diagnóstico .....	12
2.2.3.4.1 Criterios diagnósticos .....	12
2.2.3.5 Tratamiento .....	13
2.3 Marco teorico.....	14
2.3.1 Microquimerismo fetal .....	14
2.4 Marco conceptual .....	15
2.5 Marco institucional .....	17
3. OBJETIVOS.....	19
3.1 Objetivo principal .....	19
3.2 Objetivos secundarios .....	19
4. POBLACIÓN Y MÉTODOS.....	21
4.1 Enfoque.....	21
4.2 Unidad de análisis y de información .....	21
4.2.1 Unidad de análisis .....	21

4.2.2	Unidad de información .....	21
4.3	Población y muestra .....	21
4.3.1	Población diana .....	21
4.3.2	Población de estudio .....	21
4.3.3	Muestra .....	21
4.3.3.1	Tipo y técnica de muestreo .....	22
4.4	Selección de sujetos a estudio .....	22
4.4.1	Criterios de inclusión .....	22
4.4.2	Criterios de exclusión .....	22
4.5	Definición y operacionalización de las variables .....	23
4.5.1	Variables .....	23
4.6	Recolección de datos .....	24
4.6.1	Técnicas .....	24
4.7	Plan de procesamiento de datos .....	28
4.8	Plan de análisis de datos .....	29
4.9	Alcances y límites .....	29
4.9.1	Obstáculos .....	29
4.9.2	Alcances .....	29
4.10	Aspectos éticos .....	29
4.11	Categoría de riesgo .....	30
5.	RESULTADOS.....	31
6.	DISCUSIÓN.....	35
7.	CONCLUSIONES.....	37
8.	RECOMENDACIONES.....	39
9.	APORTES.....	41
10.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	43
11.	ANEXOS.....	47
11.1	Boleta de recolección de datos .....	47
11.2	Consentimiento informado .....	49

# 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes afectan aproximadamente al 20% de la población mundial; el Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad autoinmunitaria multisistémica, de origen desconocido, afecta aproximadamente al 5% de la población mundial con una frecuencia mayor en la población femenina con una relación de 9:1.<sup>1,2</sup>

Esta enfermedad es muy fuertemente influenciada por factores genéticos, se estima que un tercio de la susceptibilidad a la enfermedad es determinada genéticamente.<sup>4</sup> Se ha evidenciado la relación que existe entre el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de las moléculas de antígeno leucocitario humano (HLA) y el desarrollo de LES; estudios de asociación amplia del genoma han indicado una señal genética que surge del complejo principal de histocompatibilidad (CMH)<sup>3</sup>, se ha evidenciado que la presencia de HLA en pacientes con LES difiere según la población y la región del mundo. Estudios sobre la genómica de LES han evidenciado una diferente relación entre HLA en la población Europea, Asiática y Americana según los alelos determinados.<sup>4</sup>

Las enfermedades autoinmunes son enfermedades con un espectro de procesos órgano-específico como la tiroiditis de Hashimoto, y enfermedades sistémicas como Lupus Eritematoso Sistémico.<sup>6</sup> El LES es la enfermedad auto inmunitaria más representativa, afecta aproximadamente al 5% de la población mundial.<sup>6</sup> Esta enfermedad es muy fuertemente influenciada por factores genéticos, se estima que un 44% de la susceptibilidad a la enfermedad es determinada genéticamente.<sup>3</sup> Las complicaciones como la nefritis lúpica son formas graves de la enfermedad que se producen en el 40-50% de los pacientes.<sup>8</sup>

En un estudio realizado en Guatemala, titulado caracterización epidemiológica, clínica y terapéutica de pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico año 2011, reveló que de los 282 pacientes con diagnóstico de LES, el promedio de edad fue de 37.79 años, predominio de afectación en la población femenina en 265 (93.97%), 173 (61%) procedían del departamento de Guatemala, 32 (11%) del departamento de Escuintla, la etnia más frecuente fue la ladina en 231 (81.91%), con un nivel de escolaridad general que no supera la educación primaria en 189 (67.02%) pacientes. En la actualidad en nuestro país no se cuenta con estudios de frecuencia en la población con LES y genes de HLA.

Referente a lo mencionado se demostró la importancia de Identificar el HLA más frecuente en la población guatemalteca con diagnóstico de LES que acuden a la Consulta Externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios, así como sus diferentes fenotipos y alelos. La importancia de realizar la tipificación de HLA en pacientes con LES radica en que se ha evidenciado que según el genotipo y fenotipo de HLA este puede estar relacionado a las diferentes manifestaciones clínicas, a la presencia de autoanticuerpos, así como, a la susceptibilidad a complicaciones como Nefritis Lúpica.<sup>5</sup>

Con el presente estudio se pretendió dar respuesta a la siguiente pregunta de investigación, ¿cuáles son los genes de HLA en pacientes con Lupus eritematoso sistémico que asistieron a la Consulta Externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios?, lo anterior se realizó por medio de un instrumento de recolección de datos dirigido a pacientes con diagnóstico de LES, en el cual se describieron manifestaciones clínicas e inmunológicas. Previo a consentimiento informado se extrajo muestra de sangre venosa, a la cual se aplicó la técnica estandarizada de PCR Luminex para la determinación de los alelos de HLA.

## **2. MARCO DE REFERENCIA**

### **2.1. Marco antecedentes**

#### **2.1.1. Nivel Mundial**

En Arabia Saudita en el año 2014 se estudiaron 51 pacientes con LES donde se obtuvieron resultados que evidencian que DRB3 tiene un papel protector contra LES.<sup>10</sup>

En la población japonesa un estudio con 843 pacientes con LES y 778 controles sanos, se tipificaron alelos de HLA-DRB1 al nivel de cuatro dígitos, los resultados obtenidos fueron que la presencia DRB1\*13:02 presenta un papel como factor protector en la población japonesa,<sup>11</sup> se ha descrito el papel de alelos HLA-DRB1 como un papel protector así como de predisposición ante LES.<sup>12</sup>

En la India se estudiaron 53 pacientes con LES severo, se utilizó método de PCR para la obtención de los alelos de HLA, los resultados obtenidos fueron significativa presencia de HLA-DRB1\*03 y DQB1\*14 en los pacientes con LES.<sup>13</sup>

En descendientes Sicilianos, un estudio de 45 con LES y 60 controles sanos se utilizó el método de PCR-SSP para determinar alelos de HLA, se obtuvieron resultados evidenciando la presencia de HLA-C1 con una presencia del 82.2% y un 41.7% en controles con un OR: 6.4, concluyendo que la presencia de HLA-C1 es significativamente asociado como factor de riesgo para presencia de LES.<sup>7</sup>

#### **2.1.2 Latinoamérica**

En Perú un estudio sobre HLA en pacientes con AR y LES, con una población de 30 pacientes con LES donde se realizó la tipificación por medio de microtoxicidad de Tarasaki, y se evidenció que el HLA DR4 estuvo presente en el 42.3% de la población.<sup>14</sup>

En México se estudiaron a 81 pacientes con diagnóstico de LES y se realizó la tipificación de HLA por el método PRC-SSO, se evidenció que el DRB1\*0301 fue el más frecuente en la población.

## 2.2. Marco referencial

### 2.2.1. Complejo Mayor de Histocompatibilidad

Es una familia de genes ubicados en el brazo corto del cromosoma 6 cuyos productos están implicados en la presentación de antígenos a los linfocitos T.<sup>15</sup>

En humanos, los genes MHC conforman el denominado sistema HLA (por human leukocyte antigen), porque estas proteínas se descubrieron como antígenos en los leucocitos, que podían detectarse con anticuerpos. Los genes MHC son fundamentales en la defensa inmunológica del organismo frente a los patógenos, y por otro lado, constituyen la principal barrera al trasplante de órganos y de células madre.<sup>16</sup>

La región del brazo corto del cromosoma 6 que contiene los genes del MHC posee la información de:

- glucoproteínas de la membrana plasmática involucradas en los mecanismos de presentación y procesamiento de antígenos a los linfocitos T: se agrupan en los genes de clase II (que codifican las proteínas MHC-II) y los genes de clase I (que codifican las proteínas MHC-I).<sup>15</sup>
- citocinas y proteínas del sistema del complemento, importantes en la respuesta inmunológica, pero que no tienen nada que ver con los genes del MHC; estos genes se agrupan en la clase III.<sup>15</sup>

Ambos tipos de moléculas participan en la respuesta inmunitaria, que permite la identificación de las moléculas propias y de las extrañas (invasoras), para eliminar estas últimas mediante diferentes mecanismos.

#### 2.2.1.1 Clasificación y nomenclatura

Los tres primeros loci definidos mediante técnicas de serología se llamaron HLA-A, HLA-B y HLA-C y hoy se conocen como genes o antígenos de clase I. Posteriormente se describieron los loci HLA-DR, HLA-DQ y HLA-DP, que en conjunto forman parte de los genes de clase II.<sup>15,16</sup>

Cada variante de un gen polimórfico se denomina alelo, el cual puede estar en ambos cromosomas (homocigocidad) o ser diferente para cada cromosoma (heterocigocidad). El grupo total de alelos del MHC (clases I, II y III) detectados en un cromosoma se denomina haplotipo. Los dos haplotipos de cada individuo constituyen el genotipo. Padre y madre transmiten, cada uno de ellos, un haplotipo el cual se hereda de forma codominante. La frecuencia de cada alelo y haplotipos varía entre cada una de las poblaciones.<sup>15</sup>

#### 2.2.1.1.1 Moléculas Clase I

Los genes MHC de Clase-I (MHC-I) codifican glucoproteínas, con estructura de inmunoglobulina: presentan una cadena pesada tipo  $\alpha$  que se subdivide en tres regiones:  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$ . Estas tres regiones están expuestas al espacio extracelular y están unidas a la membrana de la célula mediante una región transmembrana. La cadena  $\alpha$  está siempre asociada a una molécula de microglobulina  $\beta 2$ , que está codificada por una región independiente en el cromosoma 15.<sup>15</sup>

La principal función de los productos génicos de la Clase-I es la presentación de péptidos antigénicos intracelulares a los linfocitos T citotóxicos (CD8+). El péptido antigénico se aloja en una hendidura que se forma entre las regiones  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$  de la cadena pesada.<sup>16</sup>

En humanos, existen muchos isotipos (genes diferentes) de las moléculas de Clase-I, que pueden agruparse en:

1. clásicas cuya función consiste en la presentación de antígenos a los linfocitos T8: dentro de este grupo tenemos HLA-A, HLA-B y HLA-C.
2. no clásicas (también llamadas MHC clase IB), con funciones especializadas: no presentan antígenos a los linfocitos T, sino que se unen a receptores inhibidores de las células NK; dentro de este grupo se encuentran HLA-E, HLA-F, HLA-G.<sup>15</sup>

#### 2.2.1.1.2 Moléculas Clase II

Estos genes codifican glicoproteínas con estructura de inmunoglobulina, pero en este caso el complejo funcional está formado por dos cadenas, una  $\alpha$  y una  $\beta$  (cada una de ellas con dos dominios,  $\alpha 1$  y  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  y  $\beta 2$ ). Cada una de las cadenas está unida a la membrana por una región transmembrana, y ambas cadenas están enfrentadas, con los dominios 1 y 2 contiguos, en el

exterior celular. Estas moléculas se expresan sobre todo en las células presentadoras de antígeno (dendríticas y fagocíticas, así como los linfocitos B), donde presentan péptidos antigénicos extracelulares procesados a los linfocitos T cooperadores (CD4+). El péptido antigénico se aloja en una hendidura formada por los dominios  $\alpha 1$  y  $\beta 1$ . Las moléculas MHC-II en humanos presentan 5-6 isotipos, y pueden agruparse en:

- Clásicas: presentan péptidos a los linfocitos T4; dentro de este grupo tenemos HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR.
- No clásicas: accesorias, con funciones intracelulares (no están expuestas en la membrana celular, sino en membranas internas, de los lisosomas); normalmente, cargan los péptidos antigénicos sobre las moléculas MHC-II clásicas; en este grupo se incluyen HLA-DM y HLA-DO.<sup>15</sup>

#### 2.2.1.1.3 Moléculas Clase III

Esta clase contiene genes que codifican varias proteínas secretadas que desempeñan funciones inmunitarias: componentes del sistema del complemento (como C2, C4 y factor B) y moléculas relacionadas con la inflamación (citoquinas como TNF- $\alpha$ , LTA, LTB) o proteínas de choque térmico (hsp). La Clase-III tiene una función completamente diferente que las clases- I y II, pero se sitúa entre los otros dos en el brazo corto del cromosoma 6 humano, por lo que son frecuentemente descritos en conjunto.<sup>15</sup>

#### 2.2.2 Autoinmunidad

Autoinmunidad significa la presencia de autoanticuerpos o de linfocitos T que reaccionan contra los autoantígenos y no implica necesariamente que la aparición de autorreactividad tenga consecuencias patológicas. Existen tres procesos implicados en la conservación de la insensibilidad selectiva a los autoantígenos, el primero es el secuestro de los autoantígenos, los cuales los tornan inaccesibles al sistema inmunitario, el segundo es la insensibilidad específica de los linfocitos T o B pertinentes, y en tercer lugar la limitación de la reactividad potencial por mecanismos reguladores.

Se ha evidenciado que la estimulación intensa de linfocitos T puede producir señales inespecíficas que evitan la necesidad de linfocitos T colaboradores con especificidad de antígeno y originan una activación policlonal de linfocitos B y la formación de autoanticuerpos múltiples.

Modificaciones genéticas que originan hiperreactividad de las células B también pueden ocasionar la producción de autoanticuerpos, el exceso del factor activador de linfocitos B (BAFF), factor de supervivencia de linfocitos B, pueden originar la activación de linfocitos B independientes de linfocitos R y la aparición de autoinmunidad. La selección negativa de los linfocitos T autorreactivos en el timo requiere la expresión del gen regulador autoinmunitario (AIRE) que provoca la expresión de proteínas de tejidos específicos en las células epiteliales medulares del timo, los péptidos de estas proteínas se expresan en el contexto de las moléculas de complejo mayor de histocompatibilidad y median la eliminación de los linfocitos T autorreactivos, la falta de expresión de AIRE lleva a una deficiencia de selección negativa de las células autorreactivas, producción de autoanticuerpos y destrucción inflamatoria grave de múltiples órganos.

### 2.2.3 Lupus eritematoso sistémico

El LES es una enfermedad autoinmunitaria multisistémica debida a lesión tisular mediada por el sistema inmunitario. En la mayoría de los pacientes hay autoanticuerpos años antes de que aparezca el primer signo clínico. El LES es más frecuente en mujeres que hombres con una relación de aproximadamente 8:1 a 10:1 tomando como proporción habitual de 9:1, es más frecuentemente diagnosticado en mujeres en edad fértil. <sup>1,2,17</sup>

#### 2.2.3.1 Patogenia

La patogenia del LES incorpora la predisposición genética, desencadenantes ambientales (infecciones microbianas, la luz del sol y ciertos fármacos) y la alteración de la función del sistema inmunitario. Las interacciones entre los genes de susceptibilidad y factores ambientales generan respuestas inmunitarias alteradas, estas respuestas pueden incluir: 1. Activación de la inmunidad innata (células dendríticas, monocitos/macrófagos) mediante DNA o RNA virales y RNA de los autoantígenos con RNA/proteína; 2. Umbrales más bajos de activación y vías anormales de activación de las células de la inmunidad de adaptación (linfocitos B y T maduros); 3. células reguladoras ineficaces del linaje de linfocitos T CD4+ y CD8+, linfocitos B y células supresoras derivadas del linaje mieloide; 4. Eliminación disminuida de complejos inmunitarios y células apoptósicas. La activación de las células inmunitarias se realiza por aumento en la secreción de interferones 1 y 2 proinflamatorios, factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina (IL)-17, factor activador del linfocito B para citocinas de maduración del linfocito B (BLyS/BAFF) e IL-10.

<sup>1,2,17</sup>

### 2.2.3.2 Genética

Los indicios de genes predisponentes a la autoinmunidad provienen de estudios realizados en familias en particular de los efectuados en gemelos. Estos estudios demuestran que entre el 15 al 30% de los pares de gemelos monocigotos presentan concordancia en la enfermedad, en comparación con menos del 5% de gemelos dicigotos.

Los factores más frecuentes son moléculas predisponentes del antígeno leucocitario humano (HLA), la asociación de LES a los alelos de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), es decir HLA-DR2 y HLA-DR3 se ha demostrado en estudios. Otros factores genéticos incluyen polimorfismo en genes de la vía de inmunidad innata donde mencionamos, genes relacionados con interferón  $\alpha$  (STAT4, IRF5, IRAK1, TNFAIP3, PTPN), genes de las vías de señalización de linfocitos (PTPN22, PDCD-1, Ox40L, BANK-1, LYN, BLK), genes que influyen en la eliminación de células apoptósicas o complejos inmunitarios (c1q, FCRGIIA, FCRGIIIA, CRP, ITGAM), genes que influyen en la adherencia de neutrófilos (ITGAM), y genes que influyen en la reparación del ADN (TREX-1).<sup>2,18</sup>

Estudios de asociación amplia del genoma (GWAS, por sus siglas en inglés) mapeado la asociación primaria entre el locus del complejo mayor de histocompatibilidad con artritis reumatoide (AR) y LES en específico HLA-DRB1,<sup>4,19</sup> algunos alelos del HLA-DRB1 han sido reportados positivamente asociados con la susceptibilidad en diferentes grupos étnicos estudiados: DRB1\*03:01 y \*15:01 en población europea, \*15:03 en afroamericanos, \*08:02 en hispanos y \*15:01 y \*15:02 en población asiática.<sup>12</sup> Un meta análisis de 25 estudios de casos y controles concluyeron que la presencia de alelos HLA-DR4, DR11 y Dr14 tienen un papel como factor protector para LES y los alelos HLA-DR3, DR9 y DR15 tienen un papel como factor de riesgo para LES.<sup>5</sup>

Alelos como el HLA-C1 se ha visto que es un importante factor de riesgo para la presencia de LES, se ha evidenciado que la presencia de HLA-C1 presenta un aumento en estados de estrés oxidativo lo cual se puede asociar al desarrollo de enfermedades autoinmunes.<sup>7</sup>

La presencia de auto anticuerpos puede estar vinculada a la presencia de tipos específicos de HLA, en la población japonesa se ha evidenciado que la presencia de alelos de HLA-DRB1\*08:03, DQB1\*06:01 y DPB1\*05:01 están asociados con la presencia de anti-Ro, la presencia de los alelos DRB1\*15:01, DQB1\*06:02 y DPB1\*05:01 están asociados a la presencia de anticuerpo anti-La, el alelo DPB1\*05:01 está asociado a la presencia de anti-Ro y anti-La en pacientes con LES.<sup>20</sup> El estudio de Nagahama demostró que el alelo HLA-DRB1\*04:05 es un determinante genético en la producción de ANA.<sup>21</sup>

La nefritis lúpica se ha visto que su presencia puede estar asociada con diferentes alelos del CMH, la presencia de los alelos HLA-DR4 y DR11 pueden ser factores protectores para nefritis lúpica, la presencia de los alelos HLA-DR3 y DR15 tienen un papel como factor de riesgo, los alelos HLA-DR3, DR15, DR4 y DR11 pueden ser predictores de nefritis lúpica.<sup>5,22-24</sup>

### 2.2.3.3 Manifestaciones clínicas

#### 2.2.3.3.1 Osteomuscular

Las artralgias y la artritis no erosiva se encuentran entre las manifestaciones clínicas más frecuentes y las experimentan más del 85% de los pacientes, estas varían de leve a incapacitante y se caracterizan por edema de tejidos e hipersensibilidad en articulaciones, tendones o ambos principalmente en manos en las articulaciones interfalángicas proximales y metacarpofalángicas, muñecas y rodillas. Solo el 10% presenta deformidades articulares esto se denomina artropatía de Jaccoud.<sup>1,2,17</sup>

#### 2.2.3.3.2 Cutáneas

El exantema facial eritematoso con una distribución en forma de mariposa a través de las prominencias malar y nasal y que respeta los pliegues nasolabiales es el exantema clásico del LES y se ve en un 30-60% de pacientes, desencadenado a menudo por la exposición al sol, pero la fotosensibilidad puede mostrarse en otras zonas del cuerpo. El lupus eritematoso discoide es la dermatitis crónica más frecuente en lupus, son lesiones circulares con bordes eritematosos, hiperpigmentados, escamosos y ligeramente elevados con centros atróficos y despigmentados. El lupus eritematoso cutáneo subagudo consta de placas escamosas y rojizas similares a las de la psoriasis.<sup>1,2,17</sup>

#### 2.2.3.3.3 Sistema renal

La nefritis es asintomática en casi todos los pacientes con lupus, 74% de los pacientes se afecta del sistema renal en algún momento de la evolución de su enfermedad. Estas lesiones se atribuyen a depósitos de inmunocomplejos circulantes o a la formación local de estos complejos en los glomérulos. La clasificación de la nefritis por lupus es básicamente histológica, se recomienda realizar una biopsia renal en todo paciente con LES y evidencia clínica de nefritis. La nefritis lúpica se clasifica en;

- Clase I: nefritis lúpica con afectación mínima del mesangio, se caracteriza por glomérulos normales en el análisis con microscopio de luz, pero depósitos inmunitarios en el mesangio en el estudio con inmunofluorescencia.

- Clase II: nefritis lúpica con proliferación del mesangio. Hiper celularidad del mesangio o expansión de la matriz del mesangio con depósitos inmunitarios.
- Clase III: nefritis lúpica focal, es una glomerulonefritis focal, segmentaria o global endocapilar o extracapilar, activa o inactiva, que afecta menos 50% de todos los glomérulos, típicamente con depósitos inmunitarios circunscritos en el subendotelio.
  - Clase III (A): lesiones activas, nefritis lúpica proliferativa focal
  - Clase III (A/C): lesiones activas y crónicas, proliferación focal y nefritis lúpica esclerosante
  - Clase III (C): lesiones inactivas crónicas con cicatrices glomerulares, nefritis lúpica esclerosante circunscrita.
- Clase IV: nefritis lúpica difusa, glomerulonefritis endocapilar o extracapilar activa o inactiva, difusa, segmentaria o global, que afecta más 50% de todos los glomérulos, de manera clásica con depósitos inmunitarios difusos en el subendotelio, con o sin alteraciones en el mesangio. Esta se divide en nefritis lúpica segmentaria difusa (IV-S) cuando más 50% de los glomérulos afectados tiene lesiones segmentarias y nefritis lúpica difusa global (IV-G) cuando más 50% de los glomérulos afectados tiene lesiones globales.
  - Clase IV-S(A): lesiones activas, nefritis lúpica proliferativa segmentaria difusa.
  - Clase IV-G (A): lesiones activas, nefritis lúpica proliferativa global difusa.
  - Clase IV-S (A/C): lesiones activas y crónicas, nefritis lúpica proliferativa y esclerosante segmentaria difusa.
  - Clase IV-G (A/C): lesiones activas y crónicas, nefritis lúpica proliferativa global difusa y esclerosante.
  - Clase IV-S (C): lesiones inactivas crónicas con cicatrices, nefritis lúpica esclerosante segmentaria difusa.
  - Clase IV-G (C): lesiones crónicas inactivas con cicatrices, nefritis lúpica esclerosante global.
- Clase V: nefritis lúpica membranosa, depósitos inmunitarios subepiteliales globales o segmentarios, la nefritis lúpica clase V puede presentarse en combinación con clase III o IV, en cuyo caso ambas se diagnosticarán. La nefritis lúpica clase V mostrara esclerosis avanzada.
- Clase VI: nefritis lúpica esclerótica avanzada, más de 90% de glomérulos globalmente esclerosados sin actividad residual.<sup>1,2,17</sup>

#### 2.2.3.3.4 Sistema pulmonar

La pleuritis es la manifestación más frecuente aparece en aproximadamente 30% de pacientes, esta se caracteriza por dolor con la respiración y derrames exudativos. Las manifestaciones pulmonares potencialmente letales incluyen inflamación intersticial que ocasiona fibrosis, síndrome de pulmón retráctil y hemorragia intraalveolar.<sup>1,2,17</sup>

#### 2.2.3.3.5 Sistema cardiovascular

La pericarditis es la manifestación cardíaca más frecuente, suele manifestarse en forma de dolor torácico subesternal que mejora inclinándose hacia delante y se exagera con la inspiración o la tos. Los trastornos más graves son la miocarditis y la endocarditis fibrinosa de Libman-Sacks, las lesiones valvulares verrugosas de Libman-Sacks son de naturaleza inflamatoria y pueden acompañarse de anticuerpos antifosfolípidos. La aterosclerosis prematura y acelerada quizá se deba al ataque inmunitario, la inflamación crónica o el daño oxidativo a las arterias o todas estas anomalías.<sup>1,2,17</sup>

#### 2.2.3.3.6 Sistema nervioso central

Las manifestaciones más frecuentes son atribuibles a la cerebritis por LES las cuales son la disfunción cognitiva, la psicosis o trastornos del humor, la enfermedad cerebrovascular y convulsiones. Estas constituyen la principal causa de morbilidad y mortalidad.<sup>17</sup>

En resonancia magnética se ven lesiones en la sustancia blanca, infartos cerebrales, trombosis de senos venosos y a veces atrofia. Otras manifestaciones son la mielopatía transversa la cual está asociada a anticuerpos antifosfolípidos y las neuropatías sensitivomotoras, a menudo asimétricas.<sup>1</sup>

#### 2.2.3.3.7 Sistema sanguíneo

La manifestación hematológica más frecuente es la anemia que aparece en alrededor del 50% de los pacientes, se puede asociar a una prueba Coombs positiva, hemolisis microangiopática o reflejo de una enfermedad crónica con una anemia normocítica normocrómica. La purpura trombocitopénica idiopática es una manifestación temprana de LES, la trombocitopenia inducida por autoanticuerpos antiplaquetarios puede provocar hemorragia.<sup>1,2,17</sup>

#### 2.2.3.3.8 Aparato digestivo

Náusea con vómitos y diarrea son datos de exacerbación de Les, la vasculitis del tubo digestivo o del mesenterio puede provocar dolor y necrosis intestinal. La peritonitis

autoinmunitaria se puede manifestar como derrame peritoneal y dolor abdominal. La pancreatitis aparece en menos del 10% y se puede asociar a trastornos vasculares, la hepatitis lupoide que es un síndrome cuando hay presencia de ANA positivos en pacientes con hepatitis activa crónica.<sup>1,2</sup>

#### 2.2.3.4 Diagnóstico

Los criterios para la clasificación de LES los ideó el American College of Rheumatology, y la revisión completa más reciente se publicó en 1982, con una actualización en 1997. Para confirmar el diagnóstico de LES se deben presentar 4 criterios acompañados de 1 criterio serológico.<sup>1,2,17,25</sup>

##### 2.2.3.4.1 Criterios diagnósticos

1. Exantema malar
  - a. Eritema fijo, plano o elevado, sobre las eminencias malares que no afectan los pliegues nasolabiales
2. Exantema discoide
  - a. Manchas eritematosas elevadas con escamas queratósicas adherentes y tapones foliculares, pueden aparecer cicatrices atróficas en las lesiones más antiguas.
3. Fotosensibilidad
  - a. Exantema como consecuencia de una reacción inusual a la luz del sol.
4. Aftas orales
  - a. Úlcera oral o nasofaríngea, generalmente indolora, observada por el médico.
5. Artritis
  - a. Artritis no erosiva que afecta a 2 o más articulaciones periféricas y se caracteriza por dolor a la palpación, edema o derrame.
6. Serositis
  - a. Pleuritis: antecedentes convincentes de dolor pleurítico o roce escuchado por un médico o pruebas de derrame pleural.
  - b. Pericarditis: demostrada con electrocardiografía, roce o prueba de derrame pericárdico.
7. Trastorno renal
  - a. Proteinuria persistente mayor 0.5 g/día o mayor 3+ si no se realiza cuantificación.
  - b. Moldes celulares: pueden ser eritrocitos, hemoglobina, granular, tubular o mixtos.
8. Trastorno neurológico
  - a. Convulsiones: sin fármacos causales ni trastornos metabólicos conocidos.
  - b. Psicosis: sin fármacos causales ni trastornos metabólicos conocidos.

## 9. Trastorno hematológico

- a. Anemia hemolítica: con reticulocitosis
- b. Leucopenia  $< 4.000/\text{mm}^3$  totales en 2 o más ocasiones
- c. Linfopenia  $< 1.500/\text{mm}^3$  en 2 o más ocasiones
- d. Trombocitopenia  $< 100.000/\text{mm}^3$  sin fármacos causales

## 10. Trastorno inmunitario

- a. Anti-ADN: anticuerpo frente a ADN natural con valores anómalos
- b. Anti-Sm: presencia de anticuerpos frente al antígeno nuclear Sm
- c. Indicios positivos de anticuerpos antifosfolípidos basados en: 1. Una concentración sérica anómala de anticuerpos anticardiolipina inmunoglobulina, 2. Un resultado positivo en la prueba de detección del anticoagulante lúpico con un método estándar, 3. Un falso resultado serológico positivo a la sífilis que se sabe que es positivo durante al menos 6 meses y se confirma mediante la prueba de inmovilización de *Treponema pallidum* o la prueba de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescente.

## 11. Anticuerpo antinuclear

- a. Un valor anómalo de anticuerpo antinuclear mediante inmunofluorescencia o un ensayo equivalente en cualquier momento y sin los fármacos conocidos por su asociación al síndrome de lupus inducido por fármacos.<sup>1,2,17,25</sup>

### 2.2.3.5 Tratamientos

Los AINE suelen controlar la artritis, las artralgiás la fiebre y la serositis leve asociadas al LES, pero no así la fatiga, el malestar general o la afectación de órganos importantes. La respuesta a los inhibidores selectivos de la COX-2 es similar. Parece que la toxicidad hepática y renal de los AINE es mayor en LES.<sup>1</sup>

La hidroxiquina, en una dosis de 200mg dos veces al día puede ser eficaz en el tratamiento del exantema, la fotosensibilidad, las artralgiás, la artritis, la alopecia y el malestar general asociados al LES, y en el tratamiento del lupus eritematoso cutáneo discoide y el subagudo. Este fármaco no es eficaz para tratar la fiebre o las principales manifestaciones orgánicas, pero su uso prolongado puede disminuir la incidencia de brotes y el riesgo de trombosis, así como la afectación renal y del SNC.<sup>2</sup>

Los glucocorticoides, la indicación para la administración sistémica de glucocorticoides es: manifestaciones del LES con posible riesgo vital, como glomerulonefritis, afectación de SNC, trombocitopenia y anemia hemolítica y manifestaciones debilitantes del LES que no responden al

tratamiento conservador. Dosis: los pacientes con complicaciones de LES graves o con posible riesgo vital deben ser tratados con prednisona, 1-2 mg/kg VO al día, esta puede administrarse en dosis fraccionadas. La dosis de prednisona debe disminuirse lentamente, en no más de un 10% cada 7 a 10 días. El tratamiento IV en pulsos con metilprednisolona, en dosis de 500-1000 mg IV al día durante 3 a 5 días se ha empleado en LES en situaciones de riesgo vital como la insuficiencia renal rápidamente progresiva, la enfermedad activa del SNC y la trombocitopenia grave.<sup>17</sup>

#### 2.2.3.5.1 Tratamiento inmunosupresor

Las indicaciones de este tratamiento son: manifestaciones del Les potencialmente mortales como glomerulonefritis, afectación del SNC, trombocitopenia y anemia hemolítica.<sup>1,2,17</sup>

La ciclofosfamida se emplea para las manifestaciones de riesgo vital del LES. Los pulsos mensuales IV de ciclofosfamida en dosis elevadas 0.5-1g/m<sup>2</sup> pueden ser menos tóxicos, pero también tener un efecto inmunodepresor menor que la ciclofosfamida por vía oral en dosis diarias bajas, 1-1.5 mg/kg/día. La azatioprina a dosis de 1-3 mg/kg/día y el micofenolato mofetilo a dosis de 500-1500 mg cuatro veces al día, se emplean también como fármacos ahorradores de corticoides en las manifestaciones graves del LES. El metotrexato a dosis 7.5-30 mg/semana suele utilizarse para las manifestaciones osteomusculares y cutáneas. El rituximab es efectivo en casos de LES grave que no responden al tratamiento convencional. El belimumab inhibe la señalización del estimulador linfocítico B, inhibiendo la supervivencia de estos linfocitos.<sup>1,2,17</sup>

### 2.3 Marco Teórico

#### 2.3.1 Microquimerismo fetal

El microquimerismo fetal es la presencia de células fetales en tejidos maternos y viceversa, es decir, la coexistencia de dos poblaciones celulares diferentes.<sup>26,27</sup> La causa más frecuente del microquimerismo es el asociado al embarazo debido a un intercambio bidireccional de células feto-madre.<sup>26-28</sup>

La habilidad de las células fetales inmunocompetentes para iniciar y sostener un proceso agresivo es dependiente de varios factores. En el embarazo un cambio inmunológico en que las células fetales acarrean genes paternos expresados en la superficie de las células como HLA tipo I y II, así como antígenos de histocompatibilidad menores que son reconocidos como moléculas extrañas por el sistema materno, estas células migran al sistema materno e inducen una reacción injerta contra huésped. Este microquimerismo induce cierta tolerancia hacia el feto durante el

embarazo que se considera un estado de inmunosupresión, un microquimerismo aberrante con mecanismos aun no definidos llevan a una ruptura de esta tolerancia y al desarrollo de enfermedad auto inmunitaria subsecuente.<sup>27</sup>

Estímulos externos como infecciones o exposición a agentes físicos y químicos las células quiméricas fetales ayudadas por moléculas que se cree son generalmente Th2 y Th1 pueden activarse y montar una respuesta agresiva o activar linfocitos maternos, iniciando un proceso donde el daño es causado por células del huésped.<sup>26,27</sup>

## **2.4 Marco Conceptual**

**Alelos:** Cada una de las maneras en que puede manifestarse un carácter o un gen.

**Antígeno:** Sustancia que al introducirse en el organismo induce en este una respuesta inmunitaria, provocando la formación de anticuerpos.

**Autoinmune:** Inflamación y destrucción de tejidos por anticuerpos propios.

**Complejo mayor de histocompatibilidad:** Grupo de genes en el cromosoma 6, que codifican los antígenos leucocitarios humanos.

**Complicación médica:** Agravamiento de una enfermedad o de un procedimiento médico con una patología intercurrente, que aparece espontáneamente con una relación causal más o menos directa con el diagnóstico o el tratamiento aplicado.

**Edad:** Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.

**Etnia:** Conjunto de personas que pertenece a una misma raza y, generalmente, a una misma comunidad lingüística y cultural.

**Factor de riesgo:** circunstancia o situación que aumenta las probabilidades de una persona de contraer una enfermedad o cualquier otro problema de salud

**Factor protector:** Características personales o elementos del ambiente capaces de disminuir los efectos negativos que el estrés o la enfermedad puede tener sobre la salud y el bienestar.

**Fenotipo:** Conjunto de caracteres visibles que un individuo presenta como resultado de la interacción entre su genotipo y el medio.

**Genoma:** Conjunto de genes y disposición de estos en la célula.

**Genotipo:** Conjunto de los genes que existen en el núcleo celular de cada individuo.

Haplotipo: Conjunto de variaciones del ADN, o polimorfismos, que tienden a ser heredados juntos. Combinación de alelos o a un conjunto de polimorfismos de nucleótido sencillo que se encuentran en el mismo cromosoma.

HLA: Antígenos formados por moléculas que se encuentran en la superficie de casi todas las células de los tejidos de un individuo y en leucocitos.

Inmunofluorescencia: Técnica de inmunomarcación que hace uso de anticuerpos unidos químicamente a una sustancia fluorescente para demostrar la presencia de una determinada molécula.

Lupus eritematoso sistémico: Enfermedad inflamatoria crónica que puede afectar la piel, las articulaciones, los riñones, los pulmones, el sistema nervioso.

Manifestación clínica: Manifestaciones objetivas, clínicamente fiables, y observadas en la exploración médica

Microquimerismo: Es la presencia de un reducido número de células originarias de un individuo en otro, y que, por lo tanto, son diferentes genéticamente a las células del individuo huésped.

Nefritis: Inflamación de los riñones y puede afectar los glomérulos, túbulos o tejido intersticial que rodea los glomérulos y túbulos

PCR: Técnica de laboratorio que permite amplificar pequeños fragmentos de ADN in vitro.

Procedencia: Es el origen de algo o el principio de donde nace o deriva.

Reumatología: especialidad médica que se encarga de prevenir, diagnosticar y tratar las enfermedades musculo esqueléticas y autoinmunes sistémicas

Sexo: Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.

Susceptibilidad: Referido a una persona o animal que no posee suficiente resistencia para protegerse contra un agente patógeno determinado y evitar la infección o la enfermedad producida por ese agente infeccioso.

Tipificación: Proceso de clasificación de productos en lotes homogéneos por clases, tipos, categorías, etc. según unos criterios establecidos.

## **2.5 Marco Institucional**

El Hospital General San Juan de Dios fue puesto al servicio público en Octubre de 1778, en el siglo XX y debido al terremoto del 4 de febrero de 1976 el hospital se trasladó al parque de la Industria en la zona 9 capitalina, en el año 1981 el hospital fue trasladado a sus instalaciones actuales en la zona 1 capitalina. El Hospital General San Juan de Dios, cuenta con el apoyo del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social para dar cumplimiento a la misión de brindar atención médica integral de tercer nivel a la población guatemalteca, con personal técnico y profesional especializados.

Existen varias especialidades dentro de la institución donde podríamos mencionar Cardiología, cirugía, cirugía ambulatoria, cirugía cardiovascular, cirugía de colon y recto, cirugía de tórax, cirugía plástica, clínica de úlceras, coloproctología, dermatología, endocrinología, fisioterapia, gastroenterología, hematología, maxilofacial, medicina interna, nefrología, neumología, neurocirugía, neurología, odontología, oftalmología, otorrinolaringología, psicología, psiquiatría, reumatología, traumatología y ortopedia, urología. Existe un departamento de Pediatría donde se le brinda al niño y niña atención en las mismas especialidades, y además cuenta con varios programas: espina bífida, clínica del adolescente, control de vacunas, entre otros.

Dentro de las diferentes áreas del hospital se cuenta con el laboratorio de inmunología que se localiza en el sexto nivel, dentro del mismo se cuenta con personal capacitado dispuesto a apoyar en la investigación y desarrollo del hospital, así como una atención profesional a pacientes y personal que se avoque a sus instalaciones.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo principal**

3.1.2. Tipificar los genes del Antígeno Leucocitario Humano en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico que acuden a la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios en el año 2019.

#### **3.2 Objetivos específicos**

3.2.1 Describir las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con LES.

3.2.2 Determinar los diferentes fenotipos de HLA en pacientes con LES.

3.2.3 Determinar los alelos de HLA presentes en pacientes con LES.



## **4. POBLACIÓN Y MÉTODOS**

### **4.1. Enfoque**

4.1.1. Estudio descriptivo transversal

### **4.2. Unidad de Análisis y de Información**

4.2.1. Unidad de análisis

4.2.1.1. Tipos de HLA según fenotipo y alelo en muestras sanguíneas de los pacientes con diagnóstico de LES.

4.2.2. Unidad de Información

4.2.2.1. Registros médicos y pacientes de 18 años o más con LES según criterios de la Sociedad Americana de Reumatología 1997 (American College of Rheumatology) que acudieron a la consulta externa de Reumatología Hospital General San Juan de Dios.

### **4.3. Población y muestra**

4.3.1. Población Diana: pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico

4.3.2. Población de Estudio: pacientes que acudieron a la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios que cumplen los criterios de selección.

4.3.3. Muestra:

Se estudiaron 50 pacientes con LES que asistieron a la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios, seleccionados por conveniencia y de manera consecutiva. El total de pacientes a estudio se condicionó por la disponibilidad económica, debido al costo de los reactivos para realizar el HLA.

#### 4.3.3.1. Tipo y técnica de muestreo

No probabilístico por conveniencia

### **4.4. Selección de sujetos a estudio**

#### 4.4.1. Criterios de inclusión:

- Pacientes de nacionalidad guatemalteca
- Pacientes con LES diagnosticado por reumatólogo
- Pacientes que consintieron voluntariamente participar en el estudio

#### 4.4.2. Criterios de exclusión:

- Pacientes con síndrome sobreposición
- Pacientes con Síndrome Anti fosfolípidos
- Pacientes con Enfermedad Mixta de tejido conectivo

#### 4.5. Definición y operacionalización de las variables

##### 4.5.1. Variables

Variable		Definición Conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de Medición	Criterios de clasificación/ unidad de medida
Sociodemográficas	Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.	Edad en años obtenido de boleta de colección de datos	Numérica discreta	Razón	Años
	Sexo	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.	Dato obtenido de boleta de colección de datos	Categórica	Nominal	Masculino Femenino
	Etnia	Comunidad humana definida por afinidades raciales, lingüísticas, culturales, etc.	Se pregunta al sujeto de estudio si se considera indígena o no indígena	Categórica dicotómica	Nominal	Indígena No indígena
Clínicas	Manifestación clínica	Manifestaciones objetivas, clínicamente fiables, y observadas en la exploración médica	Dato obtenido de registro clínico	Categórica	Nominal	Exantema malar Exantema discoide Fotosensibilidad Aftas orales Artritis Serositis Pleuritis Pericarditis

						Trastorno renal Trastorno neurológico Trastorno hematológico Trastorno inmunitario
Antígeno Leucocitario Humano	Molécula que se encuentra en la superficie de la mayoría de las células del cuerpo	Dato recolectado de muestras y analizado para su tipificación	Numérica Continua	Intervalo	Tipo A, B, C, D  Clase I, II	

#### 4.6. Recolección de datos

##### 4.6.1. Técnicas

En esta investigación se utilizó la técnica estandarizada de PCR Luminex para la determinación de las variables de HLA.

##### 4.6.2. Procesos

###### A. Fase administrativa.

Paso 1: Se presentó el protocolo de investigación a la unidad de trabajos de graduación para su aprobación.

Paso 2: Se presento el protocolo de investigación a la unidad de comité de ética de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala para su aprobación.

Paso 3: Se presento el protocolo de investigación a la unidad de comité de ética del Hospital General San Juan de Dios para su aprobación.

###### B. Fase de recolección de datos.

Paso 4: Se tomó el listado de los 127 pacientes con LES que asistieron a la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios.

Paso 5: Se seleccionaron 50 pacientes a conveniencia del investigador que cumplieron con todos los criterios de inclusión y se les abordó el día que asistieron a su cita control para tener acceso al expediente médico.

Paso 6: A los pacientes se les presentó la investigación, así como sus objetivos y si querían participar en la misma.

Paso 7: A los pacientes que accedieron a participar en la investigación se les proporcionó un consentimiento informado explicando el objetivo de la investigación, así como la confidencialidad de cada persona en la investigación, en caso de no saber leer se les leyó y resolvió cualquier duda, se les pidió que firmaran o colocaran su huella en caso de no poder firmar.

Paso 8: Se les solicitó que respondieran unas preguntas sobre manifestaciones clínicas que hayan presentado o estén presentes, por medio de una tabla de recolección de datos (ver anexo 1). La encuesta fue dirigida y llenada por los investigadores.

Paso 9: Se identificó cada boleta de recolección de datos en la esquina superior derecha con un número correlativo que fue colocado por el estudiante, el cual inició a partir del número 1 al 50.

Paso 10: Se procedió a identificar el cuestionario designando un número entero.

Paso 11: Se realizó el llenado del instrumento de recolección de datos por el entrevistador y se tomaron datos del expediente para registro de laboratorios previos del paciente.

Paso 12: Posterior a la entrevista, previa sepsia y antisepsia se extrajo una muestra de sangre venosa la cual fue colocada en un tubo con EDTA.

Paso 13: Las muestras luego de ser extraídas fueron colocadas en un recipiente a una temperatura aproximada de  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  para su transporte.

Paso 14: Las muestras fueron almacenadas en el laboratorio de inmunología a una temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La muestra de ADN que se utilizó para PCR se suspendió en agua estéril o en 10mM de Tris-HCL, pH 8.0-9.0, con una concentración óptima de  $20\text{ ng}/\mu$ .

Paso 15: Las muestras de ADN fueron amplificadas con el siguiente procedimiento: Ingresaron al programa PCR LABType en el termociclador como en la siguiente tabla:

Paso	Temperatura y tiempo de incubación	Número de ciclos
1	96 °C 03:00	1
2	96 °C 00:20 60 °C 00:20 72 °C 00:20	5
3	96 °C 00:10 60 °C 00:15 72 °C 00:20	30
4	72 °C 10:00	1
5	4°C indefinido	1

5. Se descongelo el ADN, los cebadores de amplificación y la mezcla D-mix. Se mantuvo en hielo hasta su uso.
6. Se ajusto la concentración de ADN genómico en 20 ng/μl con agua estéril
7. Se mezclo el volumen indicado de D-mix y cebadores.
8. Se añadió la Taqpolimerasa inmediatamente antes del uso
9. Se pipeteó 2 μl de ADN en el fondo de un tubo. Se almacenaron los tubos o la bandeja parcialmente cubierta para evitar la evaporación y la contaminación.
10. Se añadió la cantidad de Taq polimerasa a la mezcla de amplificación.
11. Se agitó el vortex durante unos segundos y centrifugar 3-5 segundos
12. Se dividió en partes alícuotas 18 μl de mezcla de amplificación y se añadió en cada pocillo que contenga ADN.
13. Se ejecutó el programa PCR LABType.

Una vez amplificado el ADN y listo para ser utilizado se inició el procedimiento según el siguiente protocolo:

1. Configuración previa
  - a. Se encendió el analizador LABScan 100 y comenzó el procedimiento de puesta en marcha. Se encendió el termociclador y se inició el programa de incubación de 60 °C.
  - b. Se preparó el baño de hielo picado.
  - c. Se descongeló y agitó en el vortex la D-mix y el ADN
  - d. Se sacaron todos los reactivos del almacenamiento y se colocaron a temperatura ambiente.

- e. Se mezclaron a conciencia todo el volumen del tampón de hibridación y toda la mezcla de bolas en un tubo limpio.

## 2. Amplificación

- a. Se descongelaron todos los reactivos de amplificación y se colocaron en hielo
- b. Se dividieron en partes alícuotas 2  $\mu$ l de ADN genómico en cada uno de los 96 pocillos de una bandeja para PCR
- c. Se mezclaron 432  $\mu$ l de mezcla de cebadores, 1491  $\mu$ l de D-mix y 22  $\mu$ l de TAQ polimerasa. Se agitaron bien en el vortex y centrifugaron rápidamente.
- d. Se dividieron en partes alícuotas 18  $\mu$ l de mezcla de amplificación del paso C y se añadió a los 96 pocillos que contiene ADN.
- e. Se cerró la bandeja para PCR.
- f. Se introdujo la bandeja en un horno para PCR utilizando el programa para PCR de LABType.
- g. Se extrajo la bandeja para PCR del horno y se comprobó el ADN amplificado en un 2.5% de gel de agarosa.

## 3. Desnaturalización/Neutralización

- a. En una bandeja de 96 pocillos para PCR de paredes finas y limpia, se dividió en partes alícuotas 2.5  $\mu$ l de tampón de desnaturalización por pocillo.
- b. Se añadió 5  $\mu$ l por pocillo de ADN amplificado. Se anotó las ubicaciones de las muestras de los 96 pocillos.
- c. Se mezclaron a conciencia hasta que la mezcla cambiara a un color rosa brillante.
- d. Se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos
- e. Se añadió 5  $\mu$ l por pocillo de tampón neutralización.
- f. Se mezclaron a conciencia hasta que la mezcla se convirtiera transparente o amarillo pálido.
- g. Se colocó la bandeja con cuidado en el baño de hielo.

#### 4. Hibridación/Lavado

- a. Se dividió en partes alícuotas 38  $\mu$ l de mezcla de hibridación por pocillo y se añadió todo el ADN neutralizado.
- b. Se colocó un cierre en la bandeja y se agito en el vortex a conciencia a velocidad baja.
- c. Se incubó la bandeja en un bloque de 96 pocillos en un termociclador a 60 °C durante 15 minutos.
- d. Se sacó la bandeja. Se añadió 100  $\mu$ l de tampón de lavado a cada pocillo. Se colocó un nuevo cierre en la bandeja y rotar a 1000 g por 5 minutos.
- e. Se extrajo el sobrenadante, dejando aproximadamente 10  $\mu$ l o menos.
- f. Se repitió los pasos D y E dos veces más hasta completar 3 lavados.
- g. Durante el último paso de centrifugación se preparó SAPE 1X y se mantuvo cubierto a temperatura ambiente.

#### 5. Etiquetado

- a. Tras la eliminación del sobrenadante del tercer lavado, se añadió 50  $\mu$ l de SAPE 1X por pocillo.
- b. Se colocó un cierre en la bandeja con cuidado y se agito en el vortex a conciencia a velocidad baja.
- c. Se incubó a 60 °C en el termociclador.
- d. Se sacó la bandeja y se añadió 100  $\mu$ l de tampón de lavado en cada pocillo. Se colocó un nuevo cierre en la bandeja y rotar a 1000 g durante 5 minutos.
- e. Se extrajo el sobrenadante. Se añadió el tampón de lavado para obtener el volumen final de 80  $\mu$ l.
- f. Se mezcló pipeteando y transfiriendo todas las muestras a una microplaca de 96 pocillos para la adquisición de datos.

#### **4.7. Plan Procesamiento de datos**

Se realizó una base de datos en el programa Microsoft Excel 2010 en donde se codificaron las categorías de las variables el cual fue utilizado con valores numéricos enteros, con ayuda del programa Epi info 7.2 se clasificaron los resultados de HLA así también se incluyeron datos como sexo y edad.

#### **4.8. Plan de análisis de datos**

Se realizó un análisis estadístico univariado descriptivo, las variables numéricas fueron expresados por medio de medidas de tendencia central (media, mediana y moda) y de dispersión (varianza y rango), se utilizó sistema de Epi info 7.2 para el cálculo de las medidas estadísticas. Las variables categóricas se expresaron por medio de porcentajes y frecuencia.

#### **4.9. Alcances y límites**

##### 4.9.1. Obstáculos:

- Dificultad para que los sujetos a estudio acepten el participar en el mismo.
- Disponibilidad de reactivo para HLA, debido al costo individual que supera los Q800.00 quetzales por paciente

##### 4.9.2. Alcances:

El determinar la frecuencia de HLA en los pacientes del Hospital General San Juan de Dios con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico es la base para la investigación y a la vez es pionera en el estudio de la genética de las enfermedades autoinmunes en Guatemala, para futuras investigaciones y conocer el comportamiento de la enfermedad. En Guatemala no se han realizado estudios de esta categoría por lo cual se podría iniciar la investigación en el campo de la genética en Reumatología.

#### **4.10. Aspectos éticos**

Se le informó a los pacientes seleccionados para el estudio sobre el propósito y riesgos de la investigación así como el procedimiento de la toma de muestra y el beneficio de la investigación que será un beneficio indirecto, ellos al resolver sus dudas y explicarles el procedimiento se les entregó un consentimiento informado para que firmaran, las personas con dificultad para firmar el consentimiento informado se solicitó que un representante que sea mayor de edad y esté vinculado al paciente firmara el consentimiento velando por la autonomía de cada persona, las personas que no sabían leer o escribir se les leyó el consentimiento en presencia de algún acompañante o familiar cercano. Todos los pacientes que asistieron a la Consulta Externa de Reumatología tuvieron la misma posibilidad de participar en el estudio (principio de justicia), se realizó una selección por conveniencia a los pacientes que cumplieron con los criterios de

inclusión y desearon participar en el estudio. La confidencialidad fue un punto de importancia para el estudio no se divulgaron los datos personales y nombre de los participantes, así como se evitó el causar daño a la hora de extraer las muestras.

Se revisaron las Pautas Éticas Internacionales para la investigación relacionada con la salud con seres humanos elaboradas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) 2016, donde se cumplen en la investigación con las siguientes pautas: Pauta número 1 (valor social, científico, y respeto de los derechos) al tener relevancia social y generar información confiable y válida, llevándose a cabo con el debido respeto y preocupación por los derechos y bienestar de las personas participantes; Pauta 9 (Personas que tienen capacidad de dar consentimiento informado) Se dio a los participantes información pertinente de la investigación y la oportunidad de dar su consentimiento voluntario e informado para participar en la investigación o abstenerse a hacerlo, dándose hoja informativa, con lectura comprensible, mencionando los riesgos; Pauta número 11 (Recolección, almacenamiento y uso de materiales biológicos y datos relacionados) Se obtuvo del consentimiento informado específico de la persona de quien se obtuvo el material originalmente para su uso particular, asegurando la confidencialidad de las muestras; Pauta 18 (Las mujeres como participantes de la investigación) No se excluyeron mujeres en esta investigación respetando sus condiciones físicas y psicosociales.

#### **4.11. Categoría de riesgo**

La investigación realizada fue un estudio de riesgo moderado, categoría II, la extracción de muestras de sangre fue realizada en una única ocasión para cada paciente, la investigación se realizó dentro de las instalaciones del Hospital General San Juan de Dios donde se solicitó autorización por parte del departamento de Medicina Interna, del comité de Ética del hospital, así como de Laboratorio clínico.

## 5. RESULTADOS

Se estudiaron 50 pacientes con LES que asistieron a la consulta externa de Reumatología del Hospital General San Juan de Dios, seleccionados por conveniencia y de manera consecutiva. Se les solicitó que respondieran preguntas sobre manifestaciones clínicas que hayan presentado o estén presentes, por medio de una tabla de recolección de datos. Se obtuvieron muestras de sangre de los participantes y se utilizó la técnica estandarizada de PCR Luminex para la determinación de las variables de HLA.

**Tabla 5.1** Características sociodemográficas

Características	f	n=50
		%
<b>Edad</b> ( $\bar{x}$ ;DE) 33±11		
18-24	12	24
25-32	11	22
33-39	10	20
40-46	9	18
47-53	6	12
54-60	2	4
<b>Sexo</b>		
Masculino	2	4
Femenino	48	94
<b>Etnia</b>		
Indígena	20	40
No indígena	30	60

**Tabla 5.2** Características clínicas.

Características*	f	n=50
		%
Exantema malar	38	76
Fotosensibilidad	36	72
Artritis	36	72
Aftas	33	66
Trastornos neurológicos		
Convulsiones	2	4
Psicosis	1	2
Serositis		
Pleuritis	1	2
Pericarditis	1	2
Nefritis*		
i	1	2
ii		
iii	3	6
iv	1	2
v		

\*Se tomaron solo los datos positivos.

**Tabla 5.3** Características hematológicas.

Características*	f	n=50
		%
Hipocomplementemia	44	88
Anemia	43	86
Trombocitopenia	43	86
Leucopenia	37	74
Linfopenia	29	58
Trastornos inmunológicos		
Anti-DNA	41	82
Anti-SM	40	80
FANA	24	48
Factor reumatoideo	21	42
VDRL	10	20
Anti RNP	7	14
Anticardiolipina	6	12

**Tabla 5.4** Tipificación de alelos HLA-A.**n=50**

<b>Alelo</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
2	22	44
1	8	16
3	3	6
11	3	6
24	3	6
30	3	6
25	2	4
31	2	4
23	1	2
33	1	2
ninguno	2	4

**Tabla 5.5** Tipificación de alelos HLA-B.**n=50**

<b>Alelo</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
35	11	22
7	7	14
8	5	10
14	5	10
39	5	10
15	3	6
40	3	6
18	2	4
27	1	2
41	1	2
ninguno	7	14

**Tabla 5.6** Tipificación de alelos HLA-DRB1.**n=50**

<b>Alelo</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
4	22	44
1	10	20
3	6	12
13	4	8
8	3	6
11	2	4
7	1	2
ninguno	2	4

**Tabla 5.7** Tipificación de alelos HLA-DQA1.**n=50**

<b>Alelo</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
1	24	48
3	14	28
5	3	6
4	3	6
2	2	4
ninguno	4	8

## 6. DISCUSIÓN

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad autoinmunitaria multisistémica la cual está fuertemente influenciada por factores genéticos, se estima que un tercio de la susceptibilidad a la enfermedad está determinado genéticamente.<sup>1,4</sup> Se ha evidenciado la relación entre el CMH de las moléculas de HLA y la susceptibilidad y desarrollo de LES, estudios en diferentes poblaciones demuestran la presencia de diferentes haplotipos de HLA según la población estudiada.<sup>4</sup>

Waid Wadi et al, en el estudio Relación entre tipificación de HLA y presentación clínica de Lupus Eritematoso Sistémico en pacientes de la región de Al-Qassim, Arabia Saudita, con una muestra de 51 pacientes evidenció que los alelos de HLA DRB1 más prevalentes fueron DRB1\*07(39.2%), DRB1\*15(37.3%), DRB1\*03(35.3%), DRB1\*04(29.4%). Las características clínicas más frecuentes que se presentaron fueron artritis (92.2%), afectaciones en piel (74.5%) y trastornos hematológicos no especificados (72.6%).<sup>10</sup> Furukawa H., et al, evidenciaron en el estudio Antígenos Leucocitario Humano y lupus eritematoso sistémico: un rol protector de HLADR6 alelos DRB1\*13:02 y \*14:03, que los alelos de DRB1 más frecuentemente presentes fueron DRB1\*09:01 (30.3), DRB1\*15:01 (25.9), DRB1\*04:05 (20.5%) en un total de 439 pacientes de origen japones.<sup>12</sup>

Shankarkumar U et al, estudiaron 53 pacientes con LES en el estudio asociación de HLA-DRB1\*03 y DQB1\*0302 en pacientes afectados con lupus eritematoso sistémico de India, donde se observó un incremento en la frecuencia de HLA-A1 (39.6%), A2 (4.3%), B27 (12.2%), DRB1\*03 (50%), DQB1\*0302 (56.3%).<sup>13</sup> Kuroiwa S., et al, en su estudio Antígeno leucocitario humano (HLA) en artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico realizado en población peruana, se estudiaron 30 pacientes con AR y 30 pacientes con LES que evidencio la presencia de HLA DR3 (31%) de manera predominante en la población estudiada.<sup>14</sup>

En la presente investigación se estudiaron 50 pacientes con diagnóstico de LES con una edades que abarcaban desde los 18 hasta los 57 años con una media de 33 años y mayor predominio en el sexo femenino con 48 pacientes que representan el 94% de la población, se evidencio la presencia de diferentes haplotipos y alelos de HLA, obteniendo la prevalencia de HLA-DQA1\*01 en 24(48%) pacientes, HLA-DRB1\*04 en 22(44%) pacientes, HLA- A\*02 en 22(44%) pacientes y HLA-B\*35 en 11(22%) pacientes.

Con los datos obtenidos al analizarlos con los diferentes estudios en las diferentes poblaciones se observa la diferencia en los tipos de HLA en cada población, en la población de

Arabia Saudita el más prevalente DRB1\*07, en población japonesa DRB1\*09 y la India presenta DRB1\*03, en comparación con este estudio donde la mayor prevalencia DRB1\*04.

Otras comparaciones como la presencia de HLA-A\*01 en India y HLA-A\*02 en nuestra población, y la mayor prevalencia de DQA1\*01 nos aportan datos donde podemos evidenciar las diferentes características del CMH en las moléculas de HLA en las diferentes poblaciones de cada región del mundo. Entre las características clínicas más prevalentes observamos la presencia de afectaciones de la piel con exantema malar en 74% sujetos de estudio y la presencia de artritis en el 72%. Las características hematológicas e inmunológicas más frecuentes que se observaron anemia en el 86%, trombocitopenia en el 86% y la presencia de anti-DNA en 82%, anti-SM en 80% y FANA en 48% de la población estudiada.

## 7. CONCLUSIONES

- 7.1 En los pacientes estudiados con Lupus Eritematoso Sistémico en la consulta externa en el Hospital General San Juan de Dios, se obtuvo la presencia del gen HLA-DQA1\*01 en 5 de cada 10 pacientes, seguido por HLA-DRB1\*04 y HLA-A\*02 en 4 de cada 10 pacientes.
- 7.2 Las manifestaciones clínicas más frecuentes que presentan los pacientes con LES en los pacientes estudiados del Hospital General San Juan de Dios son las afectaciones cutáneas con un predominio en el exantema malar y artritis, y fotosensibilidad en más de la mitad de los pacientes.
- 7.3 Según las manifestaciones clínicas hematológicas, más de la mitad de los pacientes estudiados con LES en el Hospital General San Juan de Dios presentaron anemia, trombocitopenia, e hipocomplementemia.
- 7.4 Con relación a los trastornos inmunológicos, 8 de cada 10 pacientes tienen positivo Anti-DNA y Anti-SM.
- 7.5 Con relación a las características demográficas 9 de cada 10 pacientes con LES son de sexo femenino.



## **8. RECOMENDACIONES**

### **8.1 Al Hospital General San Juan de Dios**

- Continuar con estudios de genética de identificación de HLA en pacientes con diagnóstico de LES en pacientes que acuden a la consulta externa de Reumatología para mayor ampliación de datos, ya que la muestra estudiada fue pequeña en comparación a la cantidad total de pacientes que asisten a evaluación.
- Promover e indagar sobre estudios de caracterización clínica en pacientes con diagnóstico de LES que acuden a la unidad de Reumatología de la consulta externa, que puedan ayudar a identificar factores de riesgo y protectores de las diferentes enfermedades autoinmunes

### **8.2 A la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala.**

- Incentivar la realización de estudios genéticos en estudiantes de pregrado que brinden mayor relevancia hacia datos nuevos de pacientes con LES y/o enfermedades autoinmunes.

### **8.3 A la población con LES**

- Incentivar a la participación de estudios a los cuales se le solicite su autorización para beneficio de estos y así aportar datos nuevos y verídicos a la población.



## **9. APORTES**

- Al caracterizar la población de estudio, se permitió obtener datos nuevos, verídicos y nunca realizados en Guatemala en relación con la identificación de HLA en pacientes con LES, por lo que puede dar continuidad y promover estudios de la genómica en las enfermedades autoinmunes.



## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Hannahs Hajn B. Lupus eritematoso sistémico. En: Kasper D, Hauser S, Jameson J, Fauci A, Longo D, Loscalzo J, editors. Harrison principios de medicina interna. 19th ed. México DF: McGraw-Hill interamericana; 2016. p. 2124–34.
2. Crow M. Lupus Eritematoso sistémico. En: Goldma-Cecil tratado de medicina interna. 25th ed. Barcelona: Elsevier; 2017. p. 1769–77.
3. Hanscombe KB, Morris DL, Noble JA, Dilthey AT, Tombleson P, Kaufman KM, et al. Genetic fine mapping of Systemic Lupus Erythematosus MHC associations in Europeans and African Americans. *Hum Mol Genet* [en línea]. 2018 Jul 31 [citado 9 Ago 2018]; Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30085094>
4. Niu Z, Zhang P, Tong Y. Value of HLA-DR genotype in systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: A meta-analysis. *International Journal of Rheumatic Diseases* [en línea]. 2015 [citado 8 Ago 2018];18(1):17–28. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1756-185X.12528>
5. Cervera R. Epidemiología y significado de las enfermedades autoinmunes en medicina. *Medicina Integral* [en línea]. 2001 [citado 8 Ago 2018];38(03):93–4. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-epidemiologia-significado-las-enfermedades-autoinmunes-13016396>
6. Gambino CM, Di Bona D, Aiello A, Carru C, Duro G, Guggino G, et al. HLA-C1 ligands are associated with increased susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Human Immunology* [en línea]. 2018 Mar 1 [citado 8 Ago 2018];79(3):172–7. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0198885918300168>
7. Silvariño DR, Ottati G, Noboa Ó. Nefropatía lúpica. *Rev. Méd. Urug* [en línea]. 2015 Mar [citado 9 Ago 2018];31(1):64–78. Disponible en: [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1688-03902015000100010](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902015000100010)
8. Rúa-Figueroa I, Erausquin C. Factores asociados a la mortalidad del lupus eritematoso sistémico. *Seminarios de la Fundación Española Reumatología* [en línea]. 2008 [citado 11 Ago 2018];9(4):219–34. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1577356608752151>
9. Wadi W, Elhefny N, Mahgoub e, Almogren A, et al. Relation between HLA typing and clinical presentations in Systemic Lupus Erythematosus patients in Al-Qassim region, Saudi Arabia. *Int J HealthSci* [en línea]. 2014 [citado 11 Ago 2018];8(2):159–65. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4166988/>

10. Hachiya Y, Kawasaki A, Oka S, Kondo Y, Ito S, Matsumoto I, et al. Association of HLA-G3' Untranslated región polymorphisms with systemic lupus erythematosus in a Japanese population: A case-control association study. *PLOS One* [en línea]. 2016 [citado 11 Ago 2018];11(6):1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158065>
11. Furukawa H, Kawasaki A, Oka S, Ito I, Shimada K, Sugii S, et al. Human leukocyte antigens and systemic lupus erythematosus: A protective role for the HLA-DR6 alleles DRB1\*13:02 and \*14:03. *PLOS One* [en línea]. 2014 [citado 11 Ago 2018];9(2):1–7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3912000/>
12. Matzkies FG, Manger B, Schmitt-Haendle M, Nagel T, Kraetsch HG, Kalden JR, et al. Severe septicaemia in a patient with polychondritis and Sweet's syndrome after initiation of treatment with infliximab. *Annals of the Rheumatic Diseases* [en línea]. 2003 [citado 9 Ago2018];62(1):81–2. Disponible en: <https://ard.bmj.com/content/62/1/81>
13. Kuroiwa R, Segami I, Diaz R, Torres C. Antígenos leucocitario humano en artritis reumatoide y lupus eritematoso sistémico. *Revista PeruanaReumatología* [en línea]. 1998 [citado 8 Ago 2018]; 4:55–2. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/reuma/v04\\_n2/antigenos.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/reuma/v04_n2/antigenos.htm)
14. Vega G. Complejo mayor de histocompatibilidad. *RevFacMed UNAM* [en línea]. 2009 Mar [citado 11 Ago 2018];52(2):86–9. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2009/un092j.pdf>
15. López-Martínez A, Chávez-Muñoz C, Granados J. Función biológica del complejo principal de histocompatibilidad. *Rev. invest. Clín* [en línea].2005 [citado 11 Ago2018];57(2):132–41. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-83762005000200005](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-83762005000200005)
16. Bhar P, Dretler A, Gdowsdi M, Ramgopal R, Williams D. *Manual Washington de terapéutica médica*. 35th ed. Barcelona: Wolters Kluwer; 2017.
17. Velázquez-Cruz R, Jiménez-Morales S, Ramírez-Bello J, Aguilar-Delfín I, Salas-Martínez G, Baca Ruíz V, et al. Systemic lupus erythematosus: genomics of the disease. *Gaceta Medica de México* [en línea]. 2012 [citado 9 Ago 2018]; 148:371–80. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22976755>
18. Kim K, Bang SY, Yoo DH, Cho SK, Choi CB, Sung YK, et al. Imputing variants in HLA-DR beta genes reveals that HLA-DRB1 issolely associated with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *PLoSOne* [en línea]. 2016 [citado 11 Ago 2018];11(2):7–14. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26919467/>
19. Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Hashimoto A, Komiya A, et al. Association of Increased Frequencies of HLA-DPB1\*05:01 with the Presence of Anti-Ro/SS-A and Anti-La/SS-B Antibodies

- in Japanese Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus Patients. PLoSOne[en línea]. 2013 [citado 12 Ago 2018];8(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23320107/>
20. Terao C, Ohmura K, Yamada R, Kawaguchi T, Shimizu M, Tabara Y, et al. Association between antinuclear antibodies and the hla class ii locus and heterogeneous characteristics of staining patterns: The nagahama study. *Arthritis and Rheumatology* [en línea]. 2014 [citado 12 Ago 2018];66(12):3395–403. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25186300/>
  21. Chung SA, Brown EE, Williams AH, Ramos PS, Berthier CC, Bhangale T, et al. Lupus Nephritis Susceptibility Loci in Women with Systemic Lupus Erythematosus. *Journal of the American Society of Nephrology* [en línea]. 2014[ citado 12 Ago 2018];25(12):2859–70. Disponible en: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1681/ASN.2013050446>
  22. de Holanda MI, Klumb E, Imada A, Lima LA, Alcântara I, Gregório F, et al. The prevalence of HLA alleles in a lupus nephritis population. *Transplant Immunology* [en línea]. 2018 Abr [citado 10 Ago 2018]; 47:37–43. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29421495>
  23. Bhallil O, Ibrahim A, Ouadghiri S, Ouzeddoun N, Benseffaj N, Bayahia R, et al. HLA Class II with Lupus Nephritis in Moroccan Patients. *Immunological Investigations* [en línea]. 2017 [citado 10 Ago 2018];46(1):1–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/08820139.2016.1208218>
  24. Yu C, Chang C. Diagnostic criterio for systemic lupus erythematosus: A critical review. *Journal of Autoimmunity* [en línea]. 2014 Feb [citado 10 Ago 2018]; 48:10-13. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896841114000067?via%3Dihub>
  25. Bustos Espinoza ML. Microquimerismo y enfermedades humanas. *Revista del Instituto Nacionalde enfermedades Respiratorias* [en línea]. 2003 Oct-Dic [citado 10 Ago 2018];16 (4): 261-270. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/iner/in-2003/in034j.pdf>
  26. Huerta G, Medrano G. Revisiones Microquimerismo fetal en enfermedades reumáticas. *Reumatología clínica* [en línea]. 2006 [citado 10 Ago 2018];2(4). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1699258X06730467>
  27. Alpízar JLQ, Miranda KEA. Quimerismo genético un nuevo paradigma para la medicina legal. *Medicina Legal de Costa Rica* [en línea]. 2009 [citado 10 Ago 2018];26(2):73–8. Disponible en: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152009000200005](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152009000200005)
  28. Ruiz–Argüelles, Guillermo Bordes–Aznar J, Díaz–Caballero N, Ruiz–DelgadoGuillermo J. La importancia del quimerismo en medicina. *Gaceta Medica deMéxico* [en línea]. 2004 [citado 10 Ago 2018];140(5):573–5. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0016-38132004000500018](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132004000500018)



**11. ANEXOS**  
**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**UNIDAD DE TRABAJOS DE GRADUACIÓN**



Correlativo: \_\_\_\_\_

Numero expediente: \_\_\_\_\_

**BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

1. Características sociodemográficas

- a. Edad: \_\_\_\_\_  
 b. Sexo: \_\_\_\_\_  
 c. Etnia:  
     i. Indígena   
     ii. No Indígena

2. Características clínicas

- |                                     | SI                       | NO                       |
|-------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| a. Exantema malar                   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| b. Extantema discoide               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| c. Artritis                         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| d. Trastorno neurológico            |                          |                          |
| i. Convulsiones                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ii. Psicosis                        | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| e. Fotosensibilidad                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| f. Aftas orales                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| g. Serositis                        | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| i. Pleuritis                        | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ii. Pericarditis                    | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| h. Trastorno hematológico           |                          |                          |
| i. Anemia                           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| ii. Leucopenia                      | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| iii. Linfopenia                     | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| iv. Trombocitopenia                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| v. Hipocomplementemia               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| i. trastornos inmunológicos (+) (-) |                          |                          |
| j. Anti-DNA                         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| k. Anti-SM                          | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| l. VDRL                             | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| m. FANA                             | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

- n. FR
- o. Anti Cardiolipina
- p. Anti RNP
- q. Nefritis
  - i. I
  - ii. II
  - iii. III
  - iv. IV
  - v. V



## Consentimiento Informado

Yo soy estudiante de séptimo año de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, estoy investigando sobre genes (características hereditarias) en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico. Se le brinda una cordial invitación a participar en esta investigación donde se le brindara información sobre este estudio. Se le responderán y aclararán cualquier pregunta o duda que surjan durante la investigación. Usted puede decidir el participar o no en esta investigación, así como decidir en el momento que usted desee.

El Lupus Eritematoso Sistémico es una enfermedad donde el sistema inmune que son las defensas del cuerpo de cada persona ataca a su propio cuerpo dando como consecuencia malestar principalmente en piel, riñones, articulaciones y en la sangre del paciente. El objetivo de esta investigación es poder ver cuál es el tipo de gen (características hereditarias) más frecuente.

Se invita a participar a los pacientes mayores de 18 años que acuden a la Consulta Externa del Hospital General San Juan de Dios que tengan diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico, han sido seleccionados por padecer la enfermedad. Usted no obtendrá un beneficio directo al participar en esta investigación, pero se obtendrá un beneficio indirecto al participar con el estudio de la enfermedad al ayudar a conocer los aspectos relacionados a los genes de la enfermedad.

La participación en esta investigación es voluntaria, usted puede decidir participar o no, el decidir participar o no en este estudio no afectará con los servicios que recibe en esta institución, el examen que se le realizará no tiene ningún costo para usted.

Los datos personales como su nombre, los resultados de la muestra que se le extraerá, así como el participar o no en el estudio no serán divulgados de ninguna manera.

El procedimiento que se llevará a cabo será el siguiente:

1. Se extraerá una sola muestra de sangre venosa por medio de una jeringa estéril y descartable. Se extraerán 5 cc de sangre lo cual no presenta riesgo para la persona, puede sentir molestias en el sitio de punción como dolor, leve sangrado y puede presentar equimosis (moretón) días después de la extracción.
2. Estas muestras serán llevadas al laboratorio de inmunología del Hospital General San Juan de Dios para su procesamiento.
3. Los resultados de la investigación serán proporcionados a su persona si lo desea en la próxima cita con la interpretación de este si lo desea.

He sido invitado (a) a participar en la investigación, entiendo que se me extraerá 5 centímetros cúbicos de sangre en una sola oportunidad. He sido informado (a) que los riesgos son mínimos y que pueden incluir un poco de dolor en el sitio de punción. Entiendo que no obtendré un beneficio directo, pero contribuiré para un beneficio indirecto como los demás pacientes con LES con los resultados de esta investigación.

He leído y comprendido la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante y entiendo que

tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera a mi cuidado o atención.

Nombre del participante: \_\_\_\_\_

Firma del participante: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

He sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento para el potencial participante y la persona ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que la persona ha dado consentimiento libremente.

Nombre del testigo: \_\_\_\_\_

Firma de testigo: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

He leído con exactitud o he sido testigo de la lectura exacta del documento de consentimiento informado para el potencial participante y la persona ha tenido la oportunidad de hacer preguntas. Confirmando que la persona ha dado consentimiento libremente.

Nombre del investigador: \_\_\_\_\_

Firma del investigador: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Ha sido proporcionada al participante una copia de este documento de consentimiento informado \_\_\_\_ (iniciales del investigador).