



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
"PROFA. OMAIRA FIGUEROA"  
SEDE ARAGUA**



**GENERACIÓN DE TROMBINA, BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN Y  
FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN INDIVIDUOS CON  
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ARTRITIS REUMATOIDE**

**Trabajo de Investigación  
presentado como requisito para  
aprobar la Asignatura por:**

Br. Vanessa Nabki

Br. José Ochoa

Br. Esther Ostia

La Morita, noviembre, 2017



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
“PROFA. OMAIRA FIGUEROA”  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**



**GENERACIÓN DE TROMBINA, BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN Y  
FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN INDIVIDUOS CON  
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ARTRITIS REUMATOIDE**

**Trabajo de Investigación  
presentado como requisito para  
aprobar la Asignatura por:**

Br. Vanessa Nabki

Br. José Ochoa

Br. Esther Ostia

**Tutor(a) Científico(a):**

Profa. Maria Del Pilar Navarro

Profa. Maria Lucia D' Errico

**Tutor(a) Metodológico(a):**

Profa. Daria Camacho

La Morita, noviembre, 2017



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
“PROFA. OMAIRA FIGUEROA”  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**



La Morita, noviembre, 2017

**CONSTANCIA DE APROBACIÓN DEL TUTOR CIENTÍFICO**

En mi carácter de Tutor Científico del Trabajo de Investigación titulado: **“GENERACIÓN DE TROMBINA, BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN INDIVIDUOS CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ARTRITIS REUMATOIDE”**; presentado por los bachilleres: Vanessa Nabki, C.I.: 23.423.727; José Ochoa, C.I.: 24.301.810 y Esther Ostia, C.I.: 23.629.791, para optar a la aprobación de la asignatura Trabajo de Investigación, considero que el mismo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado designado.

Atentamente;

María del Pilar Navarro  
C. I. 12.339.576

María Lucía D'Errico  
C.I 12.142.944



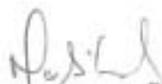
UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANALISIS SEDE ARAGUA  
DEPARTAMENTO CLÍNICO INTEGRAL  
ASIGNATURA TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

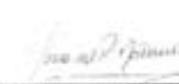


### VEREDICTO

Nosotros los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Trabajo de Investigación titulado "Generación de trombina, biomarcadores de inflamación y factores de riesgo cardiovascular en individuos con Lupus Eritematoso Sistémico y Artritis Reumatoide", presentado por los bachilleres José Ochoa C.I.V-24.301.810, Vanessa Nahki C.I.V-23.423.727 y Esther Ostia, C.I. V-23.629.791 con el fin de aprobar la Asignatura Trabajo de Investigación; después de la exposición y discusión pública del citado trabajo, consideramos que el mismo reúne los requisitos para APROBARLO como tal. En fe de lo cual se levanta la presente acta, el día 20 del mes de noviembre del año dos mil diecisiete, dejando constancia de que, conforme a lo dispuesto por la normativa vigente, actuó como Coordinadora del jurado, la Tutora Metodológica Prof. Daria Camacho.

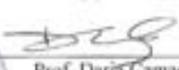
Por otra parte se hace constar, para efectos académicos de convalidación, que el presente trabajo representa el equivalente al Trabajo de Grado reconocido en otras instituciones y el contenido del veredicto es auténtico.

  
Prof. María Lucía D'Errico  
C.I.V. 12142444  
Tutor(a) científico(a)

  
Prof. María del Pilar Navarro  
C.I.V. 12339576  
Tutor(a) científico(a)

  
Prof. María del Carmen Ruiz  
C.I.V. 4549761  
Jurado evaluador



  
Prof. Daria Camacho  
C.I.V. 9.831.961  
Tutora metodológica  
Coordinadora del jurado

TI030-DC-2017

## **DEDICATORIA**

- A Dios, por iluminarnos el camino, bendecir nuestros pasos y darnos la fuerza para nunca derrumbarnos.
- A nuestros padres, por darnos la vida y con ella la capacidad de cumplir nuestros sueños.
- A nuestras tutoras científicas: María del Pilar Navarro, María Lucía D' Errico y nuestra tutora metodológica: Daría Camacho
- Al licenciado Gustavo Crespo.

## AGRADECIMIENTO

- A Dios, quién nos ha iluminado el camino en los momentos de penumbra, asegurándonos y bendiciendo cada momento y logro de nuestra vida.
- A nuestros padres, quienes con su apoyo incondicional nos han dado la base para construir nuestro futuro.
- A nuestras tutoras científicas: María del Pilar Navarro y María Lucía D' Errico y nuestra tutora metodológica: Daría Camacho, por su infinita paciencia, entendimiento y asesoramiento nos han dado las herramientas para ser unos licenciados con ética y calidad investigativa, brindándonos la oportunidad de pulir nuestras capacidades intelectuales y humanas.
- Al licenciado Gustavo Crespo, por abrirnos las puertas del Laboratorio de Hemostasia y Genética Vascular del Centro de Biofísica y Bioquímica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) para realizar nuestro procedimiento experimental, ampliar nuestra visión investigativa y ser esa clase de ser humano que te ilumina la vida y demuestra lo que es ser un ejemplo para seguir.
- Al Laboratorio de Hemostasia y Genética Vascular del Centro de Biofísica y Bioquímica del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), que permitió nuestra entrada en el centro para la determinación de la Generación de Trombina.
- A todas las personas que de una forma u otra nos han brindado su apoyo, su entendimiento y ayuda directa o indirectamente para poder culminar esta etapa de nuestras vidas.

## ÍNDICE GENERAL

<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>PP</b> vii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>RESUMEN</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Objetivo General .....	7
Objetivos Específicos .....	7
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	8
Tipo de Investigación .....	8
Población y Muestra .....	8
Técnica e Instrumento de Recolección de Datos .....	8
Procedimiento Experimental .....	9
Análisis de Datos .....	15
<b>RESULTADOS</b> .....	16
<b>DISCUSIÓN</b> .....	22
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	33
Conclusiones .....	33
Recomendaciones .....	34
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35
<b>ANEXOS</b> .....	39
A. Consentimiento Informado .....	40
B. Ficha Clínico-Epidemiológica .....	42

## LISTAS DE TABLAS

<b>Nº</b>		<b>PP</b>
1.	Biomarcadores de inflamación en grupos de estudios .....	18
2.	Factores de riesgo cardiovascular en grupos de estudio .....	19
3.	Generación de trombina .....	20
4.	Asociación de generación de trombina con biomarcadores de inflamación y factores de riesgo cardiovascular en individuos con LES y AR .....	21

## LISTAS DE FIGURAS

<b>N°</b>		<b>PP</b>
1.	Generación de trombina .....	19



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
“PROFA. OMAIRA FIGUEROA”  
SEDE ARAGUA



**GENERACIÓN DE TROMBINA, BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN INDIVIDUOS CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ARTRITIS REUMATOIDE**

Br. Vanessa Nabki

Br. José Ochoa

Br. Esther Ostia

**Tutor(a) Científico(a):**

Profa. Maria Del Pilar Navarro

Profa. Maria Lucia D' Errico

**Tutor(a) Metodológico(a):**

Profa. Daria Camacho

**RESUMEN**

La Artritis Reumatoide (AR) y el Lupus Eritematoso Sistémico (LES), son Enfermedades Reumáticas Sistémicas (ERS) caracterizadas por trastornos inflamatorios auto-inmunitarios. Los pacientes con ERS tienen una expectativa de vida reducida, el 50% de la mortalidad se atribuye a las enfermedades aterotrombóticas. Al respecto, la inflamación y la coagulación tienen un papel importante en la fisiopatología de las enfermedades vasculares. Hay evidencias que interrelacionan ambos sistemas, donde la trombina es un elemento clave que interviene como mediador en la fisiopatología de las enfermedades vasculares. De allí, la importancia de asociar en un tipo de investigación descriptiva y correlacional el factor de riesgo cardiovascular a través de la generación de trombina (GT), biomarcadores de inflamación (fibrinógeno, proteína C reactiva, IL-6, IL-8, VSG, conteo de leucocitos) y parámetros bioquímicos (Colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c, Triglicéridos), en 16 pacientes con LES, 16 pacientes con AR que asistieron al servicio de reumatología del Hospital Central de Maracay, y en 20 individuos aparentemente sanos. Todos los biomarcadores de inflamación estuvieron aumentados, en los pacientes con LES y AR, indicando un estado inflamatorio crónico. Los pacientes con LES tuvieron un 21,5% y 13,4% mayor concentración de Colesterol total y LDL-c respectivamente en relación al control, los pacientes con AR obtuvieron un aumento de 3,4% y 17,3% en las variables de VLDL-c y triglicéridos en relación al control. El descenso de HDL-c en ambos grupos de estudio en relación con el control fue de 4,7% para AR y 4,6% para LES. Se encontró una asociación negativa entre la GT con la concentración de HDL-c en los pacientes con AR. En los pacientes con LES se observó una asociación positiva entre la GT y concentración de IL-6 y VSG. Estos resultados demuestran el deterioro endotelial y desequilibrio hemostático que podría conllevar a un proceso trombotico grave en la muestra en estudio.

**Palabras clave:** Enfermedad Reumática, Inflamación, Aterosclerosis, Trombina.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
“PROFA. OMAIRA FIGUEROA”  
SEDE ARAGUA



**GENERACIÓN DE TROMBINA, BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN Y FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN INDIVIDUOS CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ARTRITIS REUMATOIDE**

Br. Vanessa Nabki  
Br. José Ochoa  
Br. Esther Ostia

**Tutor(a) Científico(a):**

Profa. Maria Del Pilar Navarro  
Profa. Maria Lucia D' Errico

**Tutor(a) Metodológico(a):**

Profa. Daria Camacho

**ABSTRACT**

Rheumatoid Arthritis (RA) and Systemic Lupus Erythematosus (SLE) are systemic rheumatic diseases (SRS) characterized by autoimmune inflammatory disorders. Patients with SRS have a reduced life expectancy, 50% of mortality is attributed to atherothrombotic diseases. In this regard, inflammation, and coagulation play an important role in the pathophysiology of vascular diseases. There is evidence that interrelate both systems, where thrombin is a key element that mediates the physiopathology of vascular diseases. Hence, the importance of associating in a descriptive and correlational type of research the cardiovascular risk factor through the generation of thrombin (GT), biomarkers of inflammation (fibrinogen, C-reactive protein, IL-6, IL-8, VSG, count of leukocytes) and biochemical parameters (total cholesterol, HDL-c, LDL-c, VLDL-c, Triglycerides), in 16 patients with SLE, 16 patients with RA who attended the rheumatology service of the Central Hospital of Maracay, and in 20 apparently healthy individuals. All the biomarkers of inflammation were increased, in patients with SLE and RA, indicating a chronic inflammatory state. Patients with SLE had a 21.5% and 13.4% higher concentration of total cholesterol and LDL-c respectively in relation to the control, patients with RA obtained an increase of 3.4% and 17.3% in the variables of VLDL-c and triglycerides in relation to the control. The decrease in HDL-c in both study groups in relation to the control was 4.7% for RA and 4.6% for SLE. A negative association was found between GT with HDL-c concentration in patients with RA. In patients with SLE, a positive association was observed between GT and concentration of IL-6 and VSG. These results demonstrate the endothelial deterioration and hemostatic imbalance that could lead to a severe thrombotic process in the sample under study.

**Key words:** Rheumatic Disease, Inflammation, Atherosclerosis, Thrombin.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades reumáticas sistémicas (ERS) son trastornos inflamatorios auto-inmunitarios que tienen en común una alteración en la respuesta inmunológica, caracterizada por una producción de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos celulares, teniendo como resultado final la afección de múltiples órganos y sistemas; con frecuencia producen alteraciones en los vasos sanguíneos y el corazón (Villa-Forte y Mandell, 2011).

Existen varias ERS, dentro de las cuales se encuentra con una alta incidencia la Artritis Reumatoide (AR), que varía entre 20-50 casos por 100.000 habitantes en América del Norte y en el norte de Europa. La proporción por sexos es de 3:1 y predomina en la mujer. El padecimiento de AR se asocia, con un aumento del 50-60% del riesgo de mortalidad de origen cardiovascular con relación a la población general de la misma edad. Según un metaanálisis, el SMR (SMR, standardized mortality ratios), de la mortalidad cardiovascular en la AR era de 1,6 (intervalo de confianza [IC] 95%: 1,5-1,8) (Rat y Adssi, 2013). La segunda ERS, es el Lupus Eritematoso Sistémico (LES), al igual que la AR, es una enfermedad multisistémica crónica autoinmune, de causa desconocida que se caracteriza por una amplia variedad de manifestaciones clínicas y producción de autoanticuerpos. Puede aparecer a cualquier edad, pero en la mayoría de los pacientes comienza entre los 15 y 55 años, con predominio en las mujeres, con una proporción de 9:1 respecto a los hombres, al igual que la AR, el riesgo de desarrollar una enfermedad coronaria se encuentra aumentado, en comparación con la población general (Galindo y cols.,2017).

El desarrollo de enfermedades cardiovasculares (ECV) en pacientes con estas patologías autoinmunes implica factores genéticos y epigenéticos, factores de riesgo cardiovascular (RCV) clásicos (hipertensión arterial [HTA], diabetes mellitus, obesidad, tabaquismo, dislipidemia y síndrome metabólico), factores protrombóticos e inflamatorios de la respuesta inmune (principalmente el factor tisular [FT], proteína C reactiva [PCR], marcadores endoteliales (VCAM, ICAM, E-selectinas), factor de necrosis tumoral alfa (FNT- $\alpha$ ), interleucina 1 (IL-1), IL-6, IL-8, proteínas quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), y el estrés oxidativo, así como elementos autoinmunes (auto-anticuerpos, autoantígenos y linfocitos autorreactivos) (Pérez-Sánchez, 2017).

Aunque la AR y LES predisponen al desarrollo de ECV, los mecanismos patogénicos difieren. Mientras que el FNT- $\alpha$ , IL-1 y la IL-6 juegan un papel central en la patogénesis de la AR, los interferones tipo I (IFN-I) predominan en LES (Mason-Peter, 2015). Adicionalmente estos pacientes presentan niveles elevados de PCR, la cual funciona como un marcador de inflamación, asociado con la elevación de ECV, debido a que interactúa con las células endoteliales y estimula la producción de IL-6 y endotelina-1. La IL-6, es una citocina inflamatoria implicada en la patogénesis y curso clínico de la ECV aterosclerótica, se une a su receptor soluble (sIL-6R) formando el complejo IL-6/sIL-6R, el cual estimula el reclutamiento de leucocitos y promueve la respuesta inflamatoria de la célula endotelial. La endotelina-1, es un potente vasoconstrictor endógeno, que media una serie de respuestas como la disfunción endotelial, contracción vasomotora, activación de leucocitos, plaquetas y proliferación celular. La PCR también promueve la captación de LDL por los macrófagos, facilitando la adhesión y trans migración de los leucocitos al estimular la expresión de moléculas de adhesión y la secreción de MCP-1; adicional la PCR tiene efectos protrombóticos, al incrementar la producción del inhibidor del

activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1) y FT en células endoteliales y monocitos (Gonzalez y Molina, 2010).

Esta relación fisiopatológica entre aterosclerosis, LES y AR ha sido sugerida por diversos autores. Algunos trabajos han demostrado que niveles séricos elevados de PCR son predictores de episodios ECV, de un mayor grosor de la íntima-media carotídeo (GIMc) y de la presencia de calcificación en arterias coronarias. El trabajo publicado por Rho y cols., (2008). Demostró que los niveles de moléculas de adhesión endoteliales (VCAM, ICAM y E-selectina) y de TNF- $\alpha$ , que son mediadores de inflamación, se encuentran asociados con la aterosclerosis, ya que juega un papel importante al regular la producción de otras citocinas proinflamatorias, como la IL-1, IL-6, IL-8 y prostaglandinas involucradas en el proceso inflamatorio y en la aterosclerosis acelerada; además son independientes de los factores de RCV clásicos. El TNF- $\alpha$  y otras citocinas proinflamatorias como la IL-6 y MCP-1 intervendría en el desarrollo de la aterosclerosis aumentando la síntesis hepática de PCR y colaborando en la aparición del patrón lúpico de dislipoproteinemia (Magro-Checa y cols., 2012).

Por otra parte, la PCR causa disfunción endotelial por la disminución del ácido nítrico sintasa endotelial, que es un potente factor antiaterogénico. Se ha observado una estrecha relación entre la AR, LES y la aterosclerosis relacionada con la oxidación de lipoproteínas de baja densidad [también denominadas LDL-oxidadas (LDL-ox)] en la articulación sinovial y el líquido intraarticular de sujetos con AR. En esta asociación, juega un importante papel el receptor de LDL oxidada parecido a lecitina (por su denominación en el idioma inglés, lectin-like oxidized LDL receptor-1, o LOX-1), que se localiza tanto a nivel endotelial como en condrocitos y sinoviocitos, y cuya expresión está inducida por algunas citocinas proinflamatorias (IL-6, IL-1 $\beta$ ). LOX-1 permite la fijación de LDL-ox, lo que incrementa la expresión de moléculas de

adhesión sobre el endotelio, que a su vez propicia la infiltración de la sinovial con leucocitos (Olvera-Palafox y cols., 2016).

El modelo explicativo de la aterogénesis, prevalente en la actualidad, establece que estas lesiones se caracterizan por una alta concentración de células inflamatorias, tales como monocitos y linfocitos T, y un gran núcleo lipídico necrótico, así como una capa fibrosa muy fina que hace que la lesión aterosclerótica sea propensa a la ruptura. La inflamación sistémica y vascular actúa sinérgicamente con los factores de riesgo tradicionales para promover la aterosclerosis en pacientes con AR y LES (Schuett y cols., 2015).

El evento inicial de la aterogénesis es la retención subendotelial de lipoproteínas contentivas de apolipoproteína-B, que son modificadas (agregadas y oxidadas) produciendo una serie de acciones biológicas, entre las que se encuentra la producción de MPC-1, que desarrolla una respuesta inflamatoria adaptativa, parcialmente caracterizada por la entrada de monocitos al espacio subendotelial, donde se diferencian a macrófagos y fagocitan las lipoproteínas retenidas y modificadas, convirtiéndose en células espumosas (Ponte, 2014; Schuett y cols., 2015).

Adicionalmente, las lipoproteínas modificadas contribuyen a la disminución de la actividad biológica del óxido nítrico y estimulan al propio endotelio para su transformación fenotípica en células disfuncionales y proinflamatorias que secretan moléculas adhesivas y quimioatrayentes (Ponte, 2014). Todas estas acciones implican que la disfunción endotelial, la inflamación y la oxidación son procesos esenciales en la génesis de la aterosclerosis. Al respecto Catalá y cols., (2007) concluyeron que la prevalencia de aterosclerosis en las enfermedades autoinmunes sistémicas es muy alta, e invitan a considerar a estos pacientes como poblaciones de riesgo similares a la de pacientes diabéticos o hipertensos.

Es por esto que la inflamación y la coagulación tienen un papel importante en la fisiopatología de las ECV aterosclerótica. Hay numerosas evidencias que puntualizan la interrelación de los dos sistemas, donde algunas proteínas que participan en la inflamación, también lo hacen en la coagulación (González, 2006).

La actividad inflamatoria en curso de los pacientes con ERS hace que ocurra un incremento de la exposición del FT, promoviendo un aumento en la generación de trombina, como consecuencia se produce una disminución en la formación de la proteína C activada (PCA) que anularía los efectos anticoagulantes que esta proteína posee. Es importante resaltar que la trombina puede verse involucrada en actividades coagulantes, antifibrinolíticas, anticoagulantes o pro-fibrinolíticas, el mecanismo de acción que se ejecute dependerá de su concentración (Montes y cols., 2001).

Al respecto, Kalz y cols., (2014), concluyeron que la trombina es un elemento clave que interviene como mediador en la fisiopatología de las ECV, ya que en condiciones patológicas como en las ERS pasa de ser un regulador fisiológico de la hemostasia a ser un mediador inflamatorio, dando como resultado cambios proinflamatorios y protrombóticos en la sangre y en la pared del vaso sanguíneo.

En la regulación de procesos inflamatorios la trombina (proteasa central de la cascada de la coagulación), es un factor clave, ya que dirige numerosas funciones celulares, sobre las células endoteliales (CE), células de la musculatura lisa vascular (CMLV), leucocitos y plaquetas, a través de la señalización de los receptores activados de proteasas (PARs, del inglés *Protease Activated Receptors*) (Kalz y cols., 2014).

A través de los PARs, la trombina está implicada de manera directa en el proceso de aterosclerosis debido a sus funciones pro-aterogénicas, tales como 1) La inducción de la disfunción endotelial a través de la regulación positiva de moléculas de adhesión celular, como E-selectina, P-selectina, ICAM-1 y VCAM-1, 2) Inducción de la expresión de MCP-1 en monocitos y CE, conduciendo a una regulación positiva significativa de los transcritos que codifican para las citocinas proinflamatorias (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 y TNF- $\alpha$ ), quimiocinas [ligando de quimiocina  $\beta$  (CCL), CCL3 y CCL4], [ligando de quimiocina  $\alpha$  (CXCL), CXCL2 y CXCL3]; y favorece la expresión del FT en monocitos, CE, CMLV y plaquetas, induciendo el reclutamiento de leucocitos en lesiones ateroscleróticas. Al respecto, se ha descrito que el aumento de los niveles de IL-6 se asocia con un incremento progresivo de riesgo de cardiopatía coronaria (Danesh y cols., 2008); 3) Formación y liberación de las especies reactivas del oxígeno por las plaquetas y CMLV, que causan el estrés oxidativo, 4) Deterioro de la función de barrera endotelial, y 5) Cambios en el tono vascular (Koch y Zerneck, 2014).

Por lo antes expuesto, la presente investigación tuvo como finalidad asociar la generación de trombina con biomarcadores de inflamación y factores de riesgo cardiovascular en individuos con lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide que asistieron al servicio de reumatología, Hospital Central de Maracay, julio-noviembre 2016.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Asociar la generación de trombina con biomarcadores de inflamación y factores de riesgo cardiovascular en individuos con lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide que asistieron al servicio de reumatología, Hospital Central de Maracay, julio-noviembre 2016, así como en individuos aparentemente sanos.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar biomarcadores de inflamación [Contaje de Leucocitos, Velocidad de Sedimentación globular (VSG), Fibrinógeno, Interleucina 6 (IL-6), IL-8 y Proteína C Reactiva (PCR)] en los grupos en estudio.
2. Determinar factores de riesgo cardiovascular [Índice de Masa Corporal (IMC), Índice de Cintura Cadera (ICC), Presión Arterial Sistólica (PAS), Presión Arterial Diastólica (PAD), Colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c y Triglicéridos] en los grupos en estudio.
3. Determinar generación de trombina en los grupos en estudio.
4. Correlacionar generación de trombina con biomarcadores de inflamación y factores de riesgo cardiovascular en individuos con lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Tipo de Investigación**

La investigación fue de tipo descriptiva-correlacional, ya que se describieron los factores de riesgo cardiovasculares, biomarcadores de inflamación y generación de trombina en pacientes con lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y en individuos aparentemente sanos, se estableció una relación entre la generación de trombina con factores de riesgo cardiovascular y biomarcadores de inflamación, y de corte transversal debido a la obtención de las muestras se realizó en un periodo comprendido entre julio-noviembre 2016 (Palella y Martins, 2012).

### **Población y Muestra**

La población estuvo constituida por los pacientes que acudieron al Servicio de Reumatología del Hospital Central de Maracay (HCM), para el periodo julio-noviembre 2016. La muestra fue conformada por 16 pacientes diagnosticados con LES, 16 pacientes diagnosticados con AR y 20 individuos aparentemente sanos (grupo control). El muestreo fue de tipo no probabilístico, donde los participantes de la misma cumplieron con criterios de inclusión (diagnóstico previo de LES y AR, edades comprendidas entre 18 y 55 años de), y criterios de exclusión (mujeres embarazadas, con tratamiento oral con anticoagulantes, trastornos cardiovasculares, renales y/o hepáticos, periodos trombóticos menor a tres meses, infecciones recientes).

### **Instrumento de Recolección de Datos**

Una vez establecidos los pacientes que conformaron la muestra en estudio se procedió a contactar e informar a los mismos del estudio a realizar, y así garantizando su participación voluntaria mediante la solicitud de la firma de un consentimiento informado (Anexo A), el cual cumple con las medidas de bioética del hospital antes mencionado. Además, se les realizó una encuesta clínica-epidemiológica (Anexo B) con el objetivo de obtener datos relevantes para la investigación.

### **Obtención de la Muestra**

A cada paciente se le extrajo 10 mL de sangre, previa asepsia de la región antebraquial por punción venosa, después de un ayuno de 12 horas. Donde 3ml de la sangre obtenida se mezcló con citrato de sodio al 3,8% p/v en una proporción 1:9 (citrato:sangre); donde se obtuvo plasma citratado mediante una centrifuga refrigerada a 4°C a 3500 Rv por 15 min; 3ml se mezclaron con EDTA para la obtención de sangre completa, la sangre restante se colocó en un tubo de ensayo sin anticoagulante para obtener suero. Las muestras de plasma se emplearon en la determinación de la generación de trombina y fibrinógeno (Fg), las muestras con EDTA para la determinación de leucocitos y velocidad de sedimentación globular (VSG) y en las muestras de suero se determinó: colesterol total, triglicéridos, HDL-c, LDL-C, VLDL-c, PCRus, IL-6 e IL-8.

## **DETERMINACIÓN DE FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR**

### **Medición de Variables Antropométricas**

Para la determinación del índice de masa corporal (IMC), se midió el peso de cada uno de los pacientes con una balanza Health-Meter, previamente calibrada, con el paciente descalzo y en ropa ligera. Los valores

obtenidos se expresaron en kilogramos (Kg). Para la talla se utilizó el tallímetro de la balanza Health-Meter y las medidas obtenidas se expresan en metros (m). Se calculó el IMC a través de la fórmula peso/talla ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ ), considerándose déficit:  $<18,5 \text{ Kg}/\text{m}^2$ ; normal:  $18,5$  a  $24,9 \text{ Kg}/\text{m}^2$ ; sobrepeso:  $25$  a  $29,9 \text{ Kg}/\text{m}^2$ ; obesidad:  $> 30 \text{ Kg}/\text{m}^2$  (Lopez y cols., 2011).

### **Determinación de Presión Arterial**

Se utilizó el método indirecto de auscultación de la arteria braquial con un estetoscopio y un esfigmomanómetro anerode (Lumiscop), efectuándose dos mediciones posteriormente promediadas; la primera fue con un descanso previo de 5 minutos y la segunda 5 minutos después. Se consideró estado de prehipertensión, valores de presión arterial sistólica (PAS)  $120$ - $139 \text{ mmHg}$  o presión arterial diastólica (PAD)  $80$ - $89 \text{ mmHg}$ ; y un estado de hipertensión arterial (HTA) valores de PAS  $140 \text{ mmHg}$  o PAD  $90 \text{ mmHg}$  (Navarro y cols., 2014).

### **Determinación del Perfil Lipídico**

La determinación del colesterol total se realizó por el método colesterol-esterasa, colesterol oxidasa (CHOD-PAP, Bioscience), considerándose riesgo un valor  $\geq 200 \text{ mg}/\text{dL}$ . El HDL-c, a través de la precipitación diferencial de las lipoproteínas de polianiones; se consideró riesgo:  $< 50 \text{ mg}/\text{dL}$ . El LDL-c y el VLDL-c se obtuvieron mediante la aplicación de la fórmula de Friedewald, con valores de referencia  $\leq 150 \text{ mg}/\text{dL}$  y  $\leq 30 \text{ mg}/\text{dL}$ , respectivamente, y para los triglicéridos a través del método G.P.O TRINDER, se consideró riesgo:  $> 150 \text{ mg}/\text{dL}$  (Lopez y cols., 2011).

## **DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES DE INFLAMACIÓN**

### **Contaje Total de Leucocitos**

La determinación del contaje total de leucocitos se realizó a través de un equipo automatizado (Coulter AcT8). Valores de referencia de 4000 a 11000 cel/mm<sup>3</sup>.

### **Velocidad de Sedimentación Globular (VSG)**

La VSG se determinó por el método de Westergren (Calvin y Ratnoff., 1951). Para ello, se enrasó la pipeta de Westergreen con la muestra de sangre mezclada con el anticoagulante (citrate de sodio al 3,8%), posteriormente se colocó en un soporte en posición vertical y se midió en milímetros (mm) el descenso de la masa globular en un lapso de 1 hora. Valor de referencia: Mujeres 1 hora: 8-11mm, Hombres 1 hora: 3-7mm.

### **Determinación de Fibrinógeno (Fg)**

La concentración plasmática de Fg se determinó por el método de Ratnoff y Menzie. A 250 µL de cada muestra de plasma, se le adicionó 750 µL de solución salina, 750 µL de CaCl<sub>2</sub> (50 mmol/L) y 250 µL de trombina bovina (100 UI/mL). Luego, a cada muestra se le colocó una varilla de vidrio y se incubó a 37 °C por una hora. Se recolectó la malla de fibrina dándole vuelta y haciéndole presión a la varilla de vidrio sobre la pared del tubo de ensayo. Posteriormente, la malla de fibrina se lavó con solución salina 2 veces, y se le adicionó 1 mL de NaOH al 3 % y se incubó a 37°C por una hora para la disolución del coágulo. Disuelto el coágulo, se le añadió a cada muestra 2 mL de la solución de trabajo de Biuret, se mezcló y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente. Se procedió a las lecturas de las

muestras a 546 nm. Valores de referencia: 200-400 mg/dL (Navarro y cols., 2014).

### **Determinación de Proteína C Reactiva Ultrasensible (PCRus):**

El nivel sérico de PCRus se determinó mediante un estuche comercial de ELISA específico para PCR en humanos, de acuerdo al protocolo recomendado por los fabricantes (DRG International).

El sistema de ensayo utilizó un anticuerpo monoclonal único dirigido contra un determinante antigénico distinto en la molécula de PCR. Este anticuerpo monoclonal anti-PCR de ratón se utiliza para inmovilización en fase sólida (en los pocillos de microtitulación). Un anticuerpo anti-PCR de cabra está en la solución conjugada anticuerpo-enzima (peroxidasa de rábano picante). La muestra a ensayar se dejó reaccionar simultáneamente con los dos anticuerpos, dando como resultado que las moléculas de PCR estén intercaladas entre la fase sólida y los anticuerpos unidos a la enzima. Después de un proceso de incubación de 45 minutos a temperatura ambiente, los pocillos se lavaron con agua para eliminar los anticuerpos marcados no unidos. Se añadió el sustrato de tetrametilbenzidina (TMB) y se procedió a incubar durante 20 minutos, dando como resultado el desarrollo de color azul. El desarrollo del color se detuvo añadiendo una solución de parada de HCl 1N produciendo un viraje a color amarillo. La absorbancia se mide espectrofotométricamente a 450 nm.

Se realizó una curva de calibración con un estándar de PCR, para así poder determinar el valor sérico de PCR a 450 nm. Se consideró normal: 1,0 mg/L- 3,0mg/L y alto riesgo: >3,0 mg/L

## Determinación de IL-6 e IL-8

El nivel sérico de interleucina 6 e interleucina 8 se determinó mediante un inmunoensayo enzimático específico para cada interleucina, de acuerdo al protocolo recomendado por los fabricantes (RayBio®).

El estuche RayBio® Human IL-6 ELISA, es un ensayo enzimático inmunoabsorbente *in vitro* para la medición cuantitativa de IL-6 humana. Para realizar este ensayo se empleó un anticuerpo específico para la IL-6 humana que se encontraba recubierto en una placa de 96 pocillos. Se pipetearon 100µL de los estándares y muestras en los pocillos dejándose incubar durante dos horas y medias a temperatura ambiente, la IL-6 presente en la muestra se unió a los pocillos por el anticuerpo inmovilizado. Los pocillos se lavaron y se añadieron 100µL del anticuerpo anti-IL-6 humano biotinilado durante una hora a temperatura ambiente con agitación suave. Después se lavó el anticuerpo biotinilado no unido, y se pipetearon 100µL de estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano picante a los pocillos dejándolos a temperatura ambiente por 45 minutos. Los pocillos se lavaron de nuevo, se añadieron 100µL de una solución de sustrato de TMB a los pocillos dejándolo por 30 minutos a temperatura ambiente y en la oscuridad, el color se desarrolló en proporción a la cantidad de IL-6 unida. Por último, se añadieron 50µL de la solución de parada y se produjo un viraje de color de azul a amarillo, y se realizó una medición de la intensidad de color a 450 nm la cual fue directamente proporcional a la concentración de IL-6 en la muestra, siendo los valores de referencia < 1,60 pg/mL.

Para realizar la medición se IL-8 se realizó el mismo procedimiento, pero utilizando el kit RayBio® Human IL-8 ELISA, siendo los valores de referencia < 150 pg/mL.

## **DETERMINACIÓN DE LA MÁXIMA GENERACIÓN DE TROMBINA**

El THROGA es un método para determinar la capacidad máxima de generación de trombina, se realizó mediante el tiempo de coagulación por Ecarina (ECT, ecarin clotting time). Se procedió a realizar la medición de la generación de trombina utilizando un coagulómetro semi-automatizado, a través de 2 tubos provistos en el estuche, un tubo activador (contenía activadores de la coagulación y 22,4 ATU de hirudina y estabilizadores) y un tubo de referencia (contenía 22,4 ATU de hirudina y estabilizadores), el buffer ECT se preparó a partir de tris base 0,05 M con 0,154 M CaCl a un pH de 7,5.

El procedimiento experimental fue realizado de la siguiente manera, se preparó un pool de plasma pobre en plaquetas (PPP) del cual se añadieron 100uL tanto al tubo activador como al tubo de referencia, se agitaron ambos tubos a 550 rpm en un agitador durante 30 minutos a temperatura ambiente, se precalentó el coagulómetro a 37°C y se procedió a determinar el ECT, donde se detuvo la reacción añadiendo 300uL del buffer ECT frío, se pipetearon 200ul del pool de plasma en la cubeta (previamente se colocó una bala de plomo), se añadieron 80uL de la muestra (plasma citratado), se dejó incubar por 3 minutos a 37°C y por último se agregaron 20uL de la solución de ecarina (5 U/mL de ecarina en 0,05M CaCl<sub>2</sub>) precalentada a 37°C, se midió el tiempo de coagulación, se tomó el valor de los tiempos medidos de ambos tubos (activador y referencia) por duplicado y se sacó un promedio de los tiempos.

Se realizó una curva de calibración con el buffer ECT para determinar las unidades antitrombina, la cual permitió conocer la concentración de generación de trombina de los pacientes en estudio. Los valores de

referencia son  $115 \pm 20$  ATU/mL (HAEMOSYS®-THROGA, THROmbinGenerationAssay).

## **ANÁLISIS DE DATOS**

Se realizó un análisis estadístico de tipo descriptivo por medio del paquete estadístico PAST versión 2,17c, los datos se presentaron como la media, la desviación estándar ( $X \pm DS$ ), frecuencia absolutas y relativas. Para establecer las comparaciones entre los factores de riesgo cardiovascular, parámetros inflamatorios y generación de trombina en individuos con LES, AR, y en el grupo control se realizó la prueba t-Student. La correlación de la generación de trombina con factores de riesgo cardiovascular y biomarcadores de inflamación en pacientes con LES Y AR se realizó a través de la correlación de Pearson. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos con un valor de  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

Un total de 52 pacientes conformaron la muestra de estudio, estos fueron agrupados de la siguiente manera; 16 pacientes con LES (16 personas del sexo femenino), 16 pacientes con AR (15 femeninas y 1 masculino) y 20 individuos aparentemente sanos (grupo control).

### **Biomarcadores de Inflamación en los Grupos de Estudio**

Las variables evaluadas están reflejadas en la tabla 1 para pacientes con AR, LES y grupo control, además de su promedio, las desviaciones estándar pertinentes a cada grupo, sus intervalos de confianza al 95% y el percentil de varianza.

El grupo de LES obtuvo una media estadísticamente significativa superior al control en las variables de VSG, IL-6, IL-8 y PCR. Mientras que los pacientes con AR obtuvieron una media estadísticamente significativa superior al control en las variables de leucocitos y Fibrinógeno.

### **Factores de Riesgo Cardiovascular**

Los resultados obtenidos en las determinaciones bioquímicas son presentados en la tabla 2, donde se observa el Colesterol, Triglicéridos, LDL-c, VLDL-c y HDL-c para los pacientes con AR, LES y grupo control. Los parámetros físicos no tuvieron ninguna relevancia estadística por tal motivo no son presentados en la tabla.

Los parámetros bioquímicos tuvieron diferencias significativas tanto en los pacientes con AR y LES en relación con los controles, como se detallan a continuación.

Las variables de colesterol total y LDL-c, obtuvieron una media significativamente superior en los pacientes con LES en relación a los pacientes con AR. El caso fue similar en la determinación de VLDL-c y triglicéridos, encontrándose valores significativamente aumentados en pacientes con AR y LES con relación al grupo control.

El HDL-c fue significativamente mayor en el grupo control en relación a los pacientes, seguida de los pacientes de AR y posteriormente los de LES, con una diferencia del 5% ( $p=0.0175$ ).

### **Generación de Trombina**

La generación de trombina es uno de los parámetros más importantes de la investigación, debido a su activación y producción desequilibrada en procesos inflamatorios, donde se expone el factor tisular, haciendo que esté proteasa de serina actúe como un factor proinflamatorio y protrombótico y no antihemorrágico.

En la figura 1 y tabla 3 están reflejados los valores obtenidos en esta variable expresados en ATU/mL, en los diferentes grupos de estudio.

**Tabla 1. Biomarcadores de inflamación en grupos de estudio.**

Variable	Grupo	n	$\bar{x}$	DS	Min - Max	IC <sub>95%</sub> (□)	p
Leucocitos (cel/mm <sup>3</sup> )	Control	20	6660	1358,20	4100 - 9300	6024 - 7296	0,0352*
	AR	16	8428	2441,90	5200 - 14100	7127 - 9729	
	LES	16	6865	2462,60	3600 - 12200	5553 - 8177	
VSG (mm)	Control	20	8,05	11,81	1 - 53	2,52 - 13,58	0,0009*
	AR	16	24,94	17,42	6 - 63	15,65 - 34,22	
	LES	16	31,94	25,21	5 - 80	18,51 - 45,37	
Fibrinógeno (mg/dL)	Control	20	265,45	62,55	203 - 428	236,18 - 294,72	<0,0001*
	AR	16	381,31	44,22	278 - 450	357,75 - 404,88	
	LES	16	380,94	70,94	255 - 523	343,14 - 418,74	
IL-6 (pg/mL)	Control	20	0,67	0,31	0,2 - 1,3	0,52 - 0,81	<0,0001*
	AR	16	2,64	0,74	1,89 - 4,27	2,24 - 3,04	
	LES	16	11,63	10,37	1,92 - 29,5	6,10 - 17,15	
IL-8 (pg/mL)	Control	20	74,25	22,22	45 - 120	63,85 - 84,65	<0,0001*
	AR	16	266,31	59,44	168 - 390	234,64 - 297,99	
	LES	16	291,56	80,97	189 - 420	248,42 - 334,71	
PCR (mg/dL)	Control	20	0,25	0,14	0,1 - 0,6	0,18 - 0,32	<0,0001*
	AR	16	3,20	1,50	1,32 - 7,27	2,40 - 4,00	
	LES	16	4,53	3,25	1,56 - 12,78	2,80 - 6,27	

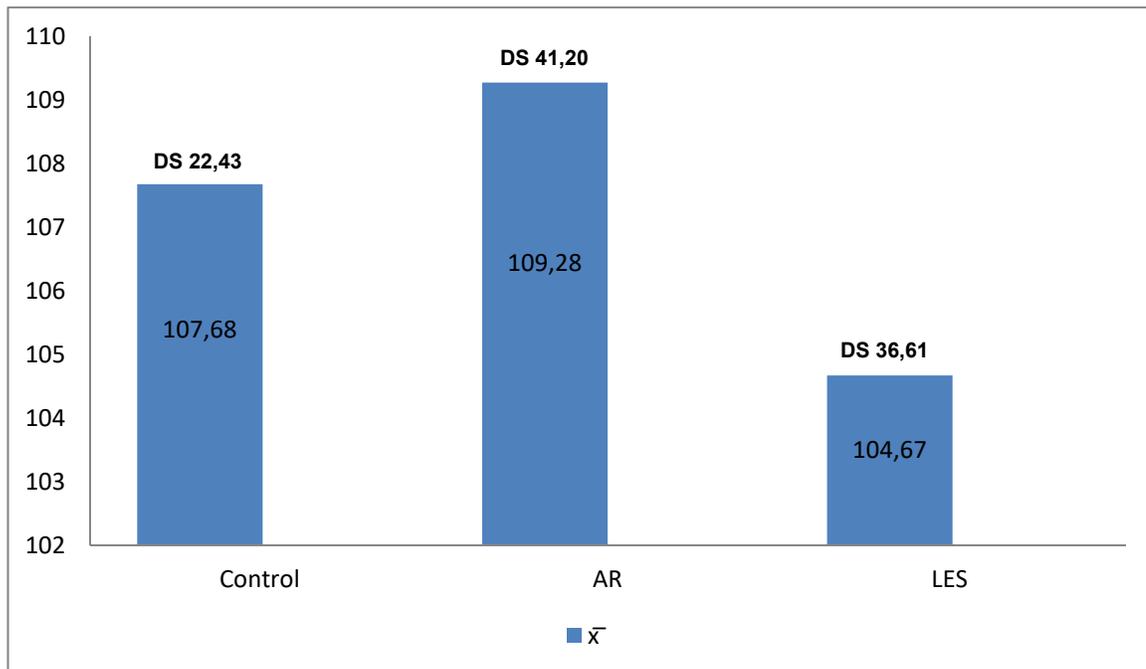
AR: Artritis Reumatoide, LES: Lupus Eritematoso Sistémico, IL-6: Interleucina 6, IL-8: Interleucina 8, PCR: Proteína C Reactiva, VSG: Velocidad de sedimentación globular. (\*\*) Diferencia estadísticamente significativa al 10%. (\*) Diferencia estadísticamente significativa al 5%. (NS) Diferencia estadísticamente no significativa.

**Tabla 2. Factores de riesgo cardiovascular en grupos de estudio.**

Variable	Grupo	n	$\bar{x}$	DS	Min - Max	IC <sub>95%</sub>	<i>p</i>
Colesterol total (mg/dL)	Control	20	159,60	21,26	120 - 190	149,65 - 169,55	<0,0001*
	AR	16	198,75	23,43	150 - 245	186,27 - 211,23	
	LES	16	215,56	33,57	175 - 312	197,67 - 233,45	
HDL-c (mg/dL)	Control	20	51,40	4,19	45 - 58	49,44 - 53,36	0,0175*
	AR	16	47,31	4,44	40 - 55	44,95 - 49,68	
	LES	16	46,69	6,91	40 - 59	43,01 - 50,37	
LDL-c (mg/dL)	Control	20	80,37	19,84	45 - 117	71,09 - 89,65	<0,0001*
	AR	16	116,84	24,05	75 - 163	104,02 - 129,65	
	LES	16	134,72	33,43	88 - 225,6	116,91 - 152,54	
VLDL-c (mg/dL)	Control	20	27,83	3,54	18 - 34	26,18 - 29,49	0,0001*
	AR	16	34,63	5,92	24 - 52	31,47 - 37,78	
	LES	16	33,34	3,77	26 - 38,4	31,33 - 35,35	
Triglicéridos (mg/dL)	Control	20	139,15	17,68	90 - 170	130,88 - 147,42	<0,0001*
	AR	16	173,63	29,55	120 - 260	157,88 - 189,37	
	LES	16	170,13	21,30	131 - 210	158,78 - 181,47	

IMC. Índice de Masa Corporal, ICC: Índice de Cintura Cadera, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica. (\*\*) Diferencia estadísticamente significativa al 10%. (\*) Diferencia estadísticamente significativa al 5%. (<sup>NS</sup>) Diferencia estadísticamente no significativa.

**Figura 1. Generación de trombina.**



**Tabla 3. Generación de Trombina.**

Variable	Grupo	IC <sub>95%</sub> (□)	<i>p</i>
Generación Trombina (UTA/mL)	Control	97,18 - 118,18	0,9250 <sup>NS</sup>
	AR	87,32 - 131,24	
	LES	85,17 - 124,18	

(\*\*) Diferencia estadísticamente significativa al 10%. (\*) Diferencia estadísticamente significativa al 5%.

(<sup>NS</sup>) Diferencia estadísticamente no significativa.

En relación con los resultados obtenidos en la generación de trombina, no se observaron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos de estudio.

## Asociación de Generación de Trombina con Biomarcadores de Inflamación y Factores de Riesgo Cardiovascular en Individuos con LES y AR

La tabla 4 muestra los valores del coeficiente de correlación de Pearson. Se puede observar que se encontró en el grupo de AR una correlación negativa estadísticamente significativa entre la GT y el HDL-c. Por su parte, en el grupo LES se obtuvo una asociación directamente proporcional y estadísticamente significativa entre la GT con la IL-6 y VSG. Las demás variables estudiadas no mostraron significancia estadística en relación con la GT.

**Tabla 4. Asociación de generación de trombina con biomarcadores de inflamación y factores de riesgo cardiovascular en individuos con LES y AR.**

Variables	Generación de Trombina (ATU/mL)			
	Artritis Reumatoidea		Lupus Eritematoso Sistémico	
	Pearson	<i>p</i>	Pearson	<i>p</i>
<b>VSG</b>	0,3498	0,1841 <sup>NS</sup>	0,5323	<b>0,0338*</b>
<b>IL-6</b>	0,0559	0,8372 <sup>NS</sup>	0,4325	<b>0,0943**</b>
<b>HDL-c</b>	-0,4735	<b>0,0639**</b>	-0,2006	0,4564 <sup>NS</sup>

IL-6: Interleucina 6, VSG: Velocidad de sedimentación globular, HDL- c: Proteínas de alta densidad. Coeficiente de correlación de Pearson entre generación de trombina y las variables cuantitativas asociadas a procesos inflamatorios y riesgo cardiovascular. (\*\*) Diferencia estadísticamente significativa al 10%. (\*) Diferencia estadísticamente significativa al 5%. (<sup>NS</sup>) Diferencia estadísticamente no significativa.

## DISCUSIÓN

En el sistema hemostático debe existir un balance adecuado entre las vías de la coagulación y la de fibrinólisis con la finalidad de mantener la fluidez de la sangre dentro del sistema vascular posterior a una lesión de los vasos sanguíneos y así evitar un proceso hemorrágico. Las alteraciones en este balance pueden conducir tanto a cuadros trombóticos como hemorrágicos (Matsumoto y cols., 2013).

La AR es una enfermedad crónica degenerativa que ocasiona inflamación y destrucción articular. Al igual que en LES ocurre una generación desmedida de trombina, ocasionada por la estimulación del tejido articular el cual está lesionado (Tanaka y cols., 2014).

El LES, es una enfermedad crónica caracterizada por un desequilibrio en el sistema inmune innato y adquirido, con la consecuente producción de autoanticuerpos y deterioro tisular. Puede afectar diversos órganos, denominada como una enfermedad multisistémica. Una de las principales causas de muerte en estos pacientes es el descontrol desmedido de la hemostasia, ocasionando procesos trombóticos, debido a un aumento en la generación de trombina, como consecuencia de la exposición del FT en el proceso inflamatorio, característico en este tipo de patología, además de la pérdida en el control en la hemostasia (Pretorius y cols., 2014).

La trombina es la encargada de escindir al fibrinógeno y formar los monómeros de fibrina que se encargaran de establecer el coágulo estable de fibrina. En procesos fisiológicos normales luego de la reestructuración del tejido, la malla de fibrina es lisada, dejando un vaso sanguíneo libre, efecto que no ocurre en estos pacientes, en cambio se producen trombos (Back y cols., 2013).

Los promedios obtenidos en los parámetros inflamatorios VSG, fibrinógeno (Fg), IL-8 y PCR de los grupos con AR y LES se encontraron estadísticamente similares entre sí, y mayores al control. Sin embargo, en el grupo LES y control el valor promedio de los leucocitos fue semejante, y más elevado en el grupo AR. La media aritmética de los leucocitos fue mayor en el grupo con AR, seguido del grupo con LES y por último el grupo control. La IL-6 fue superior en los pacientes con LES que en los pacientes con AR (p. 0,0001).

Al respecto, Tanaka y cols., (2014), confirmaron que la continua estimulación por parte de la IL-6 e IL-8 ocasiona una sobre estimulación de quimiocinas proinflamatorias, síntesis y secreción de proteínas de fase aguda como Fg y PCR. En nuestro estudio, resultados similares se apreciaron en los pacientes con LES, donde los niveles de PCR fueron superiores a los obtenidos en los pacientes con AR y el grupo control.

Valores superiores a 2mg/dL de PCR han sido confirmados como un marcador de riesgo cardiovascular independiente a los habituales en pacientes con LES. En esta investigación un 12,5% presentó valores inferiores a los anteriormente expuestos, corroborando la existencia de un riesgo cardiovascular no convencional en pacientes lúpicos, entendiéndose como factor de riesgo cardiovascular convencional el perfil lipídico, PAS y PAD (Batún y cols., 2016).

Navarro y cols., (2016) explican que la PCR desempeña un papel importante en procesos inflamatorios, debido a que reacciona con receptores de la superficie celular, agilizando la opsonización y fagocitosis. El aumento de su concentración, es un factor pronóstico independiente en pacientes que padecen patologías inflamatorias crónicas, demostrando el riesgo de

enfermedad aterosclerótica al que se encuentran estos pacientes, en nuestro estudio los valores obtenidos en cuanto a la PCR fueron similares entre los grupos de estudio y mayores al grupo control, evidenciándose de este modo el riesgo cardiovascular al que están expuestos estos pacientes.

Diversos estudios han demostrado que la vasodilatación dependiente del endotelio esta significativamente deteriorada en pacientes con AR comparado con controles sano pero que en pacientes con LES ocurre un deterioro más prematuro que en los pacientes con AR; ambas patologías demuestran afección endotelial, muchas veces provocada por sobreexposición de receptores como P-selectina y moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1) en pacientes con AR, y VCAM-1 en pacientes con LES, conllevando a una mayor captación leucocitaria y un consecuente proceso inflamatorio con deterioro endotelial y expresión del FT (Steyers y cols., 2014). La captación leucocitaria en nuestro estudio ha sido superior en los pacientes con AR, motivado a la zona de afección en esta patología, como lo son las articulaciones, mayormente distales del organismo, esto ocasiona un ambiente beneficioso para el proceso inflamatorio.

En nuestro estudio los parámetros de riesgo cardiovascular estandarizados no se vieron alterados, en cuanto a IMC, ICC, PAS y PAD tanto en los pacientes con AR y LES como en el grupo control, esto es producto del tratamiento hipolipemiantes que tienen prescritos estos pacientes debido al uso continuo de esteroide, ambos grupos de estudio se mantenían entre los valores referenciales en los parámetros físicos y presión arterial.

Es conocido que en procesos inflamatorios crónicos los factores de riesgo cardiovascular cumplen un rol en cuanto al desarrollo de procesos fisiopatológicos como la aterosclerosis. En la AR como en otras

enfermedades reumáticas se ha evidenciado una elevación de LDL-c, colesterol total y una reducción considerada de HDL-c. Aunque la relación no se ha descrito como consistente, los procesos inflamatorios crónicos alteran la estructura lipoproteica en formas que no son reflejadas en un perfil lipídico estándar. Estos procesos inflamatorios han demostrado la modificación de las lipoproteínas LDL en hacerlas más pequeñas y densas, haciéndolas proaterogénicas (Batún y cols., 2016); en este estudio se evidenció un aumento en la producción de LDL-c en los pacientes con LES, hay que tener en consideración que a pesar de ser ambas patologías de evolución crónica, el LES es de una magnitud superior, siendo este grupo el que obtuvo una elevación considerablemente más significativa tanto en los parámetros de colesterol total y el descenso en la producción y posiblemente funcionalidad del HDL-c.

Batún y cols., en el año 2016 realizaron una investigación sobre la dislipidemia y riesgo aterogénico en pacientes con LES, el 68,6% presentó dislipidemia, aumentando así el riesgo cardiovascular. En un estudio del mismo año y autor evaluaron la dislipidemia como riesgo aterogénico en pacientes con AR, obtuvieron 54,9% de dislipidemia. Estos resultados concuerdan con la gravedad inflamatoria de ambas patologías, lo cual desencadena la secreción de interleucinas y la posterior liberación de ácidos grasos a la circulación por parte del tejido adiposo.

En nuestro estudio al igual que en el de Batún y cols., (2016), los pacientes con LES presentaron un aumento de 21,5% en la variable de colesterol, 13,4% en LDL-c y un descenso significativo en la concentración de HDL-c de 4,6% en referencia al control. Los pacientes con AR mostraron un aumento en las variables de VLDL-c y Triglicéridos en referencia al control de un 3% y 17% respectivamente, además de un descenso del HDL-c del 4,7%. Teniendo en cuenta que nuestra n muestral fue inferior al de Batún y

cols., sigue mostrándose un aumento considerable en las variables antes mencionadas.

Estos procesos dislipidémicos se han explicado en la decreciente actividad de la lipoproteína lipasa (LPL) o anticuerpos anti-LPL y anticuerpos para el HDL-c o apo-A1 (porción proteica del HDL-c), estos factores contribuyen a un incremento de los triglicéridos y la disminución progresiva del HDL-c, asociándose a su vez con un incremento de las IL-6 quien es producida por el hígado y en procesos inflamatorios también es producida por células del tejido adiposo, el cual funciona como una gran tejido secretor. (Gustafsson y Svenungsson, 2014; Steyers y cols., 2014).

Navarro y cols., 2014, realizo una investigación de factores de riesgo cardiovascular en pacientes con LES, en ella obtuvo una concentración sérica disminuida de HDL-c en el 100% de los participantes del estudio, nuestra investigación mostro un descenso significativo aunque no tan comprometido en esta lipoproteína. El HDL-c cumple funciones ateroprotectoras, ya que contribuye a reducir el transporte de colesterol de la circulación sanguínea al hígado disminuyendo manifestaciones aterotrombóticas, también tiene propiedades anti-inflamatorias, por inhibición a la adhesividad en las células endoteliales.

Es importante resaltar que estos pacientes consumen diversos tipos de esteroides los cuales tienen un efecto de incrementar el colesterol total con prevalencia del LDL-c y triglicéridos, explicándose de este modo el conocido efecto de dislipidemia lúpica común tanto en LES como en AR y por tal motivo tienen prescripción médica de hipolipemiantes para evitar aumentos desproporcionados en la concentración de lípidos.

En pacientes diagnosticados con LES, como en otras patologías inflamatorias donde las lipoproteínas aumentan en concentración y adquieren un rol patológico, los macrófagos subendoteliales internalizan cantidades de LDL-c, que será oxidada y cambiara su conformación estructural a células espumosas, lo que genera una respuesta inflamatoria que conlleva a la producción de citocinas pro-inflamatorias como IL-6, PCR y fibrinógeno, quienes son consideradas también como factores de riesgo cardiovascular (Navarro y cols., 2014).

Estudios recientes han corroborado que el HDL-c puede perder sus efectos anti-inflamatorios en este tipo de enfermedades reumáticas y adquirir funciones pro-inflamatorias (HDL-pi), el cambio funcional del HDL-c a HDL-pi ocurre frecuentemente en pacientes con LES asociándose a la formación de la placa de ateroma y a una consecuente enfermedad coronaria arterial (Gustafsson y Svenungsson, 2014; Steyers y cols., 2014).

En un estudio realizado en México en el año 2009 en pacientes con LES, determinaron factores de riesgo cardiovascular, donde evidenciaron valores similares a los encontrados en esta investigación como lo fueron; altos niveles de triglicéridos (42,3%), seguida de una hipercolesteremia (27,1%); a pesar de no haber obtenido cifras elevadas en cuanto a concentraciones de triglicéridos, la hipercolesterolemia si fue similar, los individuos con LES demostraron tener valores elevados en sus concentraciones de colesterol total, posiblemente a favor de las lipoproteínas de baja densidad, lo cual se ha demostrado puede desembocar un proceso de estrés oxidativo en la pared endotelial de los vasos sanguíneo, conllevando a la creación de la placa de ateroma (Escobedo y cols., 2014).

Virchow y Rokitansky en el siglo XIX reconocieron la importancia de la formación del coágulo de fibrina y el sistema de inflamación en procesos

ateroescleróticos, aunque diferían con respecto a los primeros movimientos; Virchow aseguraba que la inflamación era la principal causa y Rokitansky la formación del coágulo. Actualmente se reconoce que ambos estaban en lo correcto, porque la aterosclerosis es definida como una enfermedad inflamatoria vascular crónica donde las proteasas de la coagulación (trombina especialmente) están activamente involucradas, para el único fin de ser utilizadas como instrumentos para la oclusión vascular a través de la formación de trombos (Mayerl y cols., 2006).

La GT no presentó diferencia estadística significativa en los pacientes como en el control ( $p=0.9250$ ), esto fue causado porque la GT tiene la tendencia de incrementar sus niveles *in vivo*, ahora bien *in vitro* la GT tiene la particularidad de aumentar sus efectos por un tiempo no muy prolongado, estas diferencias siguen siendo un tanto enigmáticas. No está claro el por qué la GT varía en cuanto a su medición *in vivo* e *in vitro* (Cate y cols., 2016).

El análisis *ex vivo* de GT fue reportado por primera vez en 2008, mostrando que era más rápido, temprano y elevado en sujetos con antecedentes de síndrome coronario agudo (SCA) en comparación con pacientes sanos, lo que nos lleva a especular que la muestra en estudio no presenta SCA (Orbe y cols., 2008).

La GT *in vivo* (es decir, la aparición de trombina activa dentro del cuerpo) es un fenómeno fisiológico normal; los marcadores de la actividad de trombina, tales como el fragmento de protrombina 1 y 2, complejos de trombina-antitrombina (TAT) y las formas de fibrina degradada tales como los dímeros D, son siempre detectables en la sangre. La GT *in vitro* es una prueba que mide la capacidad de la sangre (plasma) para formar trombina. Una persona fisiológicamente estable con una trombosis provocada mostrará signos de aumento *in vivo* de la generación de trombina, mientras que su

capacidad para formar trombina *in vitro* puede ser normal (Cate y cols., 2016).

Hemker en el año 2015, explica “Cuanto más trombina menos hemorragia pero más trombosis, cuanto menos trombina, más hemorragia pero menos trombosis”.

Cabe destacar que la determinación para la GT no es similar a las pruebas de tiempos de sangría, la GT necesita una completa estabilidad en la temperatura, como consecuencia, la termoestabilidad perfecta es una condición para la medición reproducible de la GT. Cuando las placas se llenan a temperatura ambiente incluso con muestras precalentadas y reactivos, no alcanzaran necesariamente una temperatura uniforme de 37°C incluso después de 10 minutos de incubación. Además, las diferencias de temperatura entre los pocillos de una misma placa pueden ser factores críticos en la medición, lo que dificulta la calibración, así como, la comparación con un plasma estándar (Hemker, 2015).

En segundo lugar, es un inconveniente que aparte de la muestra en la que la GT se mide, se requiera una segunda muestra para la calibración, esto duplica la cantidad de muestra, control del tiempo y también aumenta el error experimental, aun cuando la muestra y el calibrador sean manejados en pozos adyacentes (Hemker, 2015).

La complejidad para la determinación de GT es lo que podría haber conllevado a no verse alteraciones directas en su generación en esta investigación, tanto por un n pequeño como por la conservación de la muestra durante días en vez de su determinación inmediata luego de su extracción, es importante recalcar que la GT ha mostrado diversidad en

cuanto a su producción *in vitro* e *in vivo*, factor que dificulta su concentración real.

El objetivo final de esta investigación fue establecer la correlación de la GT, los biomarcadores de inflamación y los factores de riesgo cardiovascular, donde las muestras de los pacientes con AR demostraron una correlación estadísticamente negativa significativa del 10% en relación a la GT y la concentración de HDL-c. Las demás variables no tuvieron significancia estadística en los pacientes con AR. Por otra parte, los pacientes con LES mostraron una asociación proporcional del 5% entre la GT y VSG; y de un 10% con la determinación de IL-6.

Con respecto a la correlación negativa presentada entre la GT y la concentración de HDL-c, en procesos reumáticos e inflamatorios en general, ocurre un pleomorfismo en las lipoproteínas que actúa sobre las proteasas de serina causando disturbios consecutivos en la coagulación, especialmente en la fibrinólisis. El HDL-c estimula la producción de anticoagulantes con efectos de resistencia a la proteína C activada (APC) y proteína S las cuales inhiben la GT. Es decir, a mayor concentración de HDL-c menor será la GT (Fernández y cols., 2015; Schmitz y cols., 2015).

A pesar de las diversas sustancias fisiológicas usadas para la neutralización de una GT excesiva, esta tiene mecanismos de protección para evadirlos, como lo son, el lugar donde se forma la trombina. Cuando se genera aceleradamente trombina e induce la formación de fibrina, la GT toma lugar en sitios localizados con grandes concentraciones de fosfolípidos, incapacitando a los inhibidores naturales de esta acceder fácilmente al lugar para poder contrarrestar sus efectos; lugares como son el caso de las articulaciones distales del organismo y que suelen ser las más afectadas en la AR (Cate y cols., 2016).

La correlación entre la GT y las concentraciones de IL-6 y VSG fueron directamente proporcionales, mientras más trombina generada mayor será el proceso inflamatorio donde se ven implicadas aleatoriamente la IL-6 y la VSG.

La señalización de IL-6 en procesos inflamatorios cumple un rol fundamental en enfermedades reumáticas, desde su patogénesis. La IL-6 es producida fundamentalmente por el hígado, pero también por el músculo estriado y por el tejido adiposo el cual es más abundante en mujeres que en hombres en estados fisiológicos normales. La constante producción de la IL-6 conlleva a una exacerbación considerable de nuevas secreciones de proteínas de fase aguda por parte del hígado ante estas patologías, del mismo modo también comienza un rol de diferenciación de células T, específicamente TH1 y TH17 que también son reconocidas por protagonizar procesos inflamatorios. Adicionalmente, la IL-6 es responsable de la estimulación desequilibrada de células B, quienes son las responsables de la secreción de los autoanticuerpos dirigidos específicamente a las articulaciones (en AR) o a cualquier tejido (en LES) (Calabrese y cols., 2014).

Esta investigación, donde se correlacionaron diferentes tipos de variables con la GT, no han sido estudiados en el país, siendo de vital importancia para conocer y clarificar la patogénesis de las dos principales enfermedades reumáticas que muestran una alta tasa de mortalidad por sus complicaciones posteriores, sobre todo en lo que concierne a procesos trombóticos. Es importante mencionar que existen infinidad de variables que puedan relacionarse con esta clase de patologías, causado por la activación de diferentes sustancias orgánicas las cuales desembocan en un desequilibrio fisiológico que descompensa aún más al paciente. Es de vital importancia ahondar en el papel que cumple la trombina en estos pacientes y

como puede dejar de accionar su función fisiológica normal para transformarse y cumplir efectos pro-trombóticos, y además servir como un quimioatrayente leucocitario, lo cual empeora la situación inflamatoria en estos pacientes.

Además, se pudo apreciar el aumento de la concentración de proteínas de fase aguda, indicativas de procesos inflamatorios y consecutivo daño endotelial. Aumento lipídico, siendo estos, marcadores de riesgo cardiovascular, ya que contribuyen a la formación de la placa de ateroma, mediante la sobreestimulación leucocitaria y la formación de células espumosas que son adheridas a la luz del vaso sanguíneo para formar el coágulo inestable y finalizar en el trombo, es de vital recordar que esta clase de pacientes consume tratamiento esteroideo, lo cual implica un aumento de lipoproteínas de baja densidad y un descenso de las HDL-c como efecto adverso.

A pesar de los niveles normales de GT evaluada independientemente y teniendo en cuanto sus variaciones *in vivo* e *in vitro*, al correlacionarla con los diversos parámetros estudiados en esta investigación, se evidencia un deterioro endotelial y desequilibrio hemostático que podría conllevar a un proceso trombótico grave.

## CONCLUSIONES

1. Todos los biomarcadores de inflamación estuvieron aumentados, indicando un estado inflamatorio crónico.
2. Los pacientes con LES tuvieron un 21,5% y 13,4% mayor concentración de Colesterol total y LDL-c respectivamente con relación al control, los pacientes con AR obtuvieron un aumento de 3,4% y 17,3% en las variables de VLDL-c y triglicéridos en relación al control. El descenso de HDL-c en ambos grupos de estudio en relación con el control fue de 4.7% para AR y 4,6% para LES.
3. La concentración plasmática de GT se encontró dentro del rango de normalidad en los tres grupos de estudio.
4. Se encontró una asociación negativa entre la GT con la concentración de HDL-c en los pacientes con AR. En los pacientes con LES se observó una asociación positiva entre la GT y concentración de IL-6 y VSG.
5. Estos resultados demuestran el deterioro endotelial y desequilibrio hemostático que podría conllevar a un proceso trombótico grave en la muestra en estudio.

## RECOMENDACIONES

1. Aumentar el número de individuos como grupos de estudio para expandir la muestra y de este modo tener resultados más sensibles.
2. Adicionar variables de estudio, las cuales han sido consideradas como marcadores de riesgo cardiovascular previamente, pero ahora estudiándolas con la GT (ácido úrico, insulina, niveles de estrógeno en mujeres post-menopáusicas) con el fin de explicar y entender la fisiopatología de este tipo de afecciones autoinmunes y su desequilibrio hemostático.
3. Realizar estudios de fibrinólisis, determinando el Inhibidor de Fibrinólisis Activado por Trombina (TAFIa), donde podamos evidenciar el desequilibrio hemostático en estos pacientes, entender si la formación de trombos se debe exclusivamente a la GT aumentada o al descenso de la funcionalidad fibrinolítica.
4. Determinar la GT *in vivo* e *in vitro*, mediante la trombinografía calibrada automatizada (CAT, por sus siglas en inglés).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Back, J., Lood, C., Bengtsson, A., Ekdahl, K., y Nilsson B. (2013). Contact activation products are new potential biomarkers to evaluate the risk of thrombotic events in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy*, (12): 206-216.
- Batún, J., Radillo, H., y Hernández, E. (2016). Cardiovascular risk in systemic lupus erythematosus. *Rev Colombi Reumatol*, (10): 1-8.
- Calabrese, L., y Rose-John, S. (2014). IL-6 biology: implication for clinical targeting in rheumatic disease. *Nat. Rev. Rheumatol*, 10: 720-727.
- Cate, H. y Hemker, C. (2016). Thrombin generation and atherothrombosis: what does the evidence indicate?. *Journal of the American Heart Association*, 1-8.
- Escobedo, J., Pérez, R., Schargrotsky, H., y Champagne, B. (2014). Prevalencia de dislipidemias en la ciudad de México y su asociación con otros factores de riesgo cardiovascular. *Gaceta Medica de Mexico*, 150: 128–136.
- Fernández, JA., Deguchi, H., Banka, CL., Witztum, JL., y Griffin, JH. (2015). Re-evaluation of the anticoagulant properties of high-density lipoprotein—brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,35:570–572.
- Galindo, M., Molina, R., Pablos-Alvarez, J. (2017). Lupus eritematoso sistémico (I). Etiopatogenia, manifestaciones clínicas, historia natural, pruebas diagnósticas. *Medicine Servicio de Reumatología*, 12 (25), 1429-1439.
- González H. (2006). De la Hipótesis de la trombina a la inflamación ¿Es una realidad?. *Archivos de Cardiología de México*, 76 (S2), 233-238.
- González, L., Molina, J. (2010). Evaluación de la inflamación en el laboratorio. *Revista Colombiana de Reumatología*, 17 (1): 121-123.
- Gustafsson, J., y Svenungsson, E. (2014). Definitions of and contributions to cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*, 47(2): 67-76.
- Hemker, H., y Jaloma C. (2012). Tromboscopia calibrada automatizada en el estudio de los trastornos de la hemostasia. *Rev Hematol Mex*, 13(1):25-31.

- Hemker, H. (2015). The application of thrombin generation in real life clinical situations. *Thrombosis research*, 136:3-4.
- Kalz, J., Ten-Cate, H., & Spronk, H. (2014). Thrombin generation and atherosclerosis. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 37 (1), 45-55.
- Koch, M., Zernecke A. (2014). The hemostatic system as regulator of inflammation in atherosclerosis. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 66 (11), 735-744.
- Lopez, M., Martinez, G., Navarro, M., Ruiz, S., y Perez, L. (2011). Factores de riesgo cardiovascular en pacientes con lupus eritematoso sistémico. *Odouscientifica*, 12(1): 1-10.
- Magro-Checa, C., Salvatierra, J., Rosales-Alexander, J., Raya, E. (2012). Riesgo cardiovascular en el lupus eritematoso sistémico: factores implicados y métodos para su valoración. *Seminarios de la Fundación Española de Reumatología*, 13(3): 95-102.
- Mason-Peter, J. (2015). Cardiovascular disease in patients with chronic inflammation: mechanisms underlying premature cardiovascular events in rheumatologic conditions. *European Heart Journal*, 36 (8), 482-489.
- Matsumoto, T., Nogami, K y Shima, M. (2013). Simultaneous measurement of thrombin and plasmin generation to assess the interplay between coagulation and fibrinolysis. *Thromb Haemost*, 110: 761-768.
- Mayerl, C., Lukasser, M., Sedivy, R., Niederegger, H., Seiler, R., y Wick, G. (2006). Atherosclerosis research from past to present—on the track of two pathologists with opposing views, Carl von Rokitansky and Rudolf Virchow. *Virchows Arch*, 449: 96–103.
- Montes, R., Hermida, J., Perez, A., Hurtado, V. (2001). Fisiopatología de la hemostasia, mecanismos de activación e inhibición e implicaciones funcionales. *Medicina Universidad de Navarra Pamplona*, 8 (53), 2797-2802.
- Navarro, M., Acevedo, Y., Castillo, A., López, M., Ruíz, M., Bofelli, C., Rodríguez, G., Lizardo, M., Vicci, Hember., y Camacho, M. (2014). Factores de riesgo convencionales, no convencionales y lúpicos para aterosclerosis en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico. *Comunidad y Salud*, 12(1): 11-19.
- Navarro, M., Barrera, G., Morr-García, I., Pérez, Y., Briceño, C., Baldovino, F., Álvarez A., y Acosta, G. (2016). *Vitamina D, Biomarcadores de inflamación y factores de riesgo cardiovascular en pacientes con hipertensión arterial.*

*Tesis de Grado para optar al título de Licenciado en Bioanálisis, Universidad de Carabobo, Aragua.*

- Olvera-Palafox, C., Flores-Chávez, A., Romero-Moreno, J., Cardona-Müller, D., Trujillo-Trujillo, X., González-Lopez, L. (2016). Enfermedad aterosclerótica coronaria en artritis reumatoide. *El Residente*, 11(1): 19-27.
- Orbe, J., Zudaire, M., Serrano, R., Coma-Canella, I., Martínez, S., Rodríguez, JA. y Paramo, JA. (2008). Increased thrombin generation after acute versus chronic coronary disease as assessed by the thrombin generation test. *Thromb Haemost*, 99: 382–387.
- Palella, S., & Martins, F. (2012). *Metodología de la Investigación Cuantitativa*. Caracas: FEDUPEL.
- Pérez-Sánchez, C. (2017). *Mecanismos de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular en enfermedades autoinmunes sistémicas: Integración de análisis inmunológicos, moleculares y epigenéticos*. Tesis de grado para optar al título de Doctor, Universidad de Cordoba, Cordoba.
- Pretorius, E., du Plooy, J. y Soma, P. (2014). An ultrastructural analysis of platelets, erythrocytes, white blood cells, and fibrin network in systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int*, 34:1001-1005.
- Ponte, C. (2014). *III Consenso Nacional para el manejo del paciente con Dislipidemia*. Medicina Interna (Caracas), 30 (2): 54 – 154.
- Rat, A., Adssi, H. (2013). Epidemiología de las enfermedades reumáticas. *EMC Aparato Locomotor*, 46 (3), 1-16.
- Ratnoff, O., y Calvin, M. (1951). A new method for the determination of fibrinogen in small samples of plasma. *J. Lab. Clin. Med*, 37:516-520.
- Rho, Y., Chung, C., Oeser, A., Solus, J., Raggi, P., Gebretsadik, T., y cols. (2008). Novel cardiovascular risk factors in premature coronary atherosclerosis associated with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*, 35:1789–1794.
- Schmitz, G., y Orso, E. (2015). Lipoprotein(a) hyperlipidemia as cardiovascular risk factor: pathophysiological aspects. *Clin Res Cardiol Suppl*, 10:21–25.
- Schuett, K., Lehrke, M., Marx, N., Burgmaier, M. (2015). High-risk cardiovascular patients: Clinical features comorbidities and interconnecting mechanisms. *Frontiers in immunology*, 6 (591), 1-9.

Steyers, C. y Miller, F. (2014). Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(7): 11324-11349

Tanaka, T., Narazaki, M. y Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives Biology*, 1-16

Villa-Forte, A., Mandell, B. (2011). Trastornos cardiovasculares y enfermedad reumática. *Revista Española de Cardiología*, 64(9): 809-817.

## ANEXO A.

### CONSENTIMIENTO INFORMADO



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ESCUELA DE BIOANALISIS  
ASIGNATURA DE PROYECTO DE INVESTIGACION



### CONSENTIMIENTO INFORMADO

De la investigación titulada;

#### **EVALUACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR Y TROMBÓTICO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD REUMÁTICA**

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad de etiología inmunitaria, que cursan con un mecanismo natural de activación descontrolada y continuada de respuesta inflamatoria, ya que son trastornos que aparecen cuando el organismo desarrolla una respuesta inmune inadecuada contra sus propios órganos y tejidos, todo este proceso genera inflamación y lesión, favoreciendo el desarrollo de una incidencia de eventos cardiovasculares. Se pretende evaluar el estado inflamatorio y el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares a través de la determinación de pruebas de laboratorio como: generación de trombina, generación del inhibidor de fibrinólisis activado por trombina, perfil lipídico, perfil hepático, proteínas de fase aguda, así como índices antropométricos como índice cintura cadera (ICC) e índice de masa corporal (IMC), en pacientes con LES que asisten a la consulta de reumatología del Hospital Central de Maracay.

Yo \_\_\_\_\_, portador de la Cedula de Identidad n° \_\_\_\_\_, Domiciliado en \_\_\_\_\_, mayor de edad y en uso pleno de mis facultades mentales y sin ninguna coacción o violación alguna, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado de manera clara, objetiva y sencilla, sobre todos los aspectos relacionados con el presente proyecto de investigación, por parte de los autores de este, asesorado por los Prof. **María del Pilar Navarro** y Prof. **María Lucia D' Errico** ambos tutores científicos del proyecto.
2. Tener conocimientos claro que el objetivo principal del estudio es:  
**EVALUAR LA GENERACIÓN DE TROMBINA Y LA ACTIVIDAD DEL INHIBIDOR DE FIBRINÓLISIS ACTIVADO POR TROMBINA EN PACIENTES DIAGNOSTICADO CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO QUE ASISTAN AL SERVICIO DE REUMATOLOGÍA DEL HOSPITAL CENTRAL DE MARACAY.**
3. Conocer el propósito experimental expuesto por los investigadores, en el cual se establece que mi participación en el estudio consiste en permitir que me realicen una toma de muestra de sangre 10 cc para la determinación de parámetros bioquímicos

y proteínas de fase aguda.

4. Que la información suministrada al equipo de investigación será utilizada para lograr el objetivo planteado, pero que me será garantizada confidencialidad relacionada tanto con mi identidad como con cualquier información relativa a mi persona.
5. Que los resultados del proyecto solo serán utilizados para fines académicos y de su investigación.
6. Conocer que mi participación en el estudio no representa riesgo ni inconveniente alguno para mi salud.
7. Conocer que mi participación en el estudio no representa un gasto económico y que se realizara de forma gratuita.
8. Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido, ni pretendo recibir beneficio de tipo económico, producto de los posibles hallazgos en el referido proyecto de investigación.
9. Que los resultados obtenidos en esta investigación de los parámetros bioquímicos y proteínas de fase aguda serán entregados en un reporte por escrito.

#### **DECLARACION DEL VOLUNTARIO**

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento, y por cuanto la participación en este estudio es completamente voluntaria, acuerdo:

1. Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a su vez autorizar al equipo de investigación de la Universidad de Carabobo, sede Aragua, realizar el referido estudio.
2. Reservarme el derecho de revocar esta autorización, sin que ello traiga algún tipo de consecuencia para mi persona.

Voluntario(A)

Firma: \_\_\_\_\_

C.I. \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_/\_\_/20\_\_

Investigador

Firma: \_\_\_\_\_

C.I.: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_/\_\_/20\_\_



¿Qué tipo infección?:

---

15). Presenta problemas hepáticos: SI  NO

Cuales:

---

16). Presenta problemas renales: SI  NO

Cuales:

---

17). ¿Consume algún tipo de medicamento?: SI  NO

Cual (es):

---

---

---

**OBSERVACIONES:**

---

---

---

---

---