



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**DETERMINACIÓN DE INMUNOGENICIDAD DE UN ANTI –TNF (ETANERCEPT) COMO  
TERAPIA EN PACIENTES A TRAVÉS DE LA TÉCNICA ELISA.**

***TESIS***

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**QUIMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA:  
**pQFB MARIAN JOSÉ HERNÁNDEZ RAMÓN**

DIRECTOR DE TESIS  
**Dr. En C. JONNATHAN GUADALUPE SANTILLÁN BENÍTEZ**

CO ASESORA  
**Dra. MARIANA ORTIZ REYNOSO**

**TOLUCA, MÉXICO, 2019**



El presente trabajo se realizó con muestras obtenidas del Centro Médico ISSEMYM, ubicado en la ciudad de Metepec, Estado de México. Agradezco el apoyo del hospital y de aquellos pacientes que hicieron posible este trabajo. Dicha investigación demuestra nuestro afán científico por querer conocer más e indagar en aquello que se tenga por “conocido”, con el principal objetivo de servir a la comunidad y que, para un futuro, pueda ayudar a la población que padezca dicho problema.

Todo está hecho con el mayor interés y ética posible, procurando siempre, el bien común.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es el resultado de su apoyo incondicional, cariño y paciencia; tengo bastante por qué agradecer, incluso considero que la vida y las palabras no son suficientes para entender lo mucho que los quiero y lo feliz que me siento al tenerlos a mi lado; esto es el cierre de un ciclo y la apertura de uno aún mayor y con grandes satisfacciones para los 5 (no es un sueño, es un hecho)

Por y para ustedes...SIEMPRE.

***Gracias papá, mamá, Gabimanel y José Manuel***

**DETERMINACIÓN DE  
INMUNOGENICIDAD DE UN ANTI –  
TNF (ETANERCEPT) COMO  
TERAPIA EN PACIENTES A TRAVÉS  
DE LA TÉCNICA ELISA.**

# ÍNDICE GENERAL

## RESUMEN

**Introducción.** Los fármacos biotecnológicos modificaron el tratamiento de distintas enfermedades, en especial las reumáticas, pero estudios posteriores denotaron que su consumo originaba una respuesta inmunogénica en el paciente, como la formación de anticuerpos que inhiben la actividad del mismo, y por consiguiente, tienen nula respuesta clínica; un ejemplo es el etanercept. Se ha encontrado respuesta a nivel inmunogénico tras su consumo, aunque otras fuentes señalan que solo se forman anticuerpos de naturaleza no neutralizante. Los inmunoensayos ligados a enzima-sustrato (ELISA) son empleados para determinar dicha inmunogenicidad. **Objetivo.** Determinar la inmunogenicidad generada por administración de Anti-  $TNF\alpha$  (etanercept) mediante la formación de anticuerpos por medio de la técnica ELISA. **Material y Métodos.** Estudio retrospectivo transversal experimental en donde se analizó en kits de manera simultánea (kit ETN, que cuantifica la cantidad de fármaco en circulación y anti-ETN, que calcula los anticuerpos generados por consumo de etanercept) el suero de 20 pacientes con conocimiento de consumo de dicho anti-reumático. Se trabajó únicamente con 19 de ellas, ya que una no presentaba expediente en la base de datos del Centro Médico ISSEMYM. Los resultados se ingresaron al programa en línea MyAssays Analysis Software Solutions. Lo obtenido en la base de datos del Centro Médico se trabajó en base a rango de edad y sexo, lo cual fue comparado con lo resultante en la técnica ELISA. **Resultados.** 2 pacientes de sexo masculino (10.52%) resultaron negativos en el kit ETN y 2 más fueron positivos (2 mujeres) en el kit anti-ETN (10.52%); ambos hombres no presentan alteración significativa en los análisis de laboratorio. Para las mujeres, una de ellas presenta un cuadro anémico inicial y ambas muestran resultados altos en Proteína C Reactiva y Velocidad de Sedimentación Globular. **Conclusiones.** Existe mayor incidencia de inmunogenicidad generada por etanercept a la reportada en la bibliografía, la cual, no inhibe la actividad ni cantidad del biofármaco presente en circulación. Se encontró nula asociación entre la Inmunogenicidad provocada por el biofármaco y los parámetros reumatológicos de laboratorio.

## ANTECEDENTES

De acuerdo con la Legislación Europea, un fármaco biotecnológico es aquel que contiene una o varias sustancias activas de origen biológico, como las vacunas, la terapia génica o con células madre; algunos de ellos, tratan de imitar sustancias del cuerpo, como las proteínas. Tienen el objetivo de actuar de manera específica sobre células, lo que, en teoría, implica menos respuestas secundarias, aunque uno de los mayores problemas que han presentado es la inmunogenicidad, ya que el cuerpo la reconoce como una “proteína” extraña, intentando destruirlo (EUPATI, 2015)

El tratamiento para enfermedades como la artritis reumatoide era limitada, solo se usaban los corticoides y el pronóstico de mejora era deficiente; a principios de los años noventa se creó el metrotexato, pero el verdadero cambio comenzó tras la creación de los llamados “fármacos biotecnológicos”, cambiando el panorama drásticamente: primeramente se empezaron a usar fármacos como el infliximab, adalimumab y etanercept, de naturaleza anti-TNF $\alpha$ , posteriormente comenzó la generación de medicamentos con otras dianas terapéuticas como tocilizumab, rituximab y abatacept, aumentando así la posibilidad de mejora y desde 2014, se han creado fármacos de igual manera con distintas dianas, como el tofacitinib, baricitinib, olokizumab, sirukumab, sarilumab y filgotinib, siendo este último el mayormente viable para los tratamientos futuros (Corominas y Shmerling, 2017). Este tipo de fármacos se usan normalmente por 5 años

Pueden generar anticuerpos quiméricos antihumanos (HACA) y anticuerpos humanos anti-humanos (HAHA), pero su actividad sobre la terapia como tal no es clara; las moléculas conocidas como quiméricas tienden mayormente a inducir la inmunogenicidad en comparación con fármacos completamente humanos; un estudio redacta la aparición de anticuerpos anti-ETN $\alpha$  en 0-18% de los pacientes, sin ningún impacto en la eficacia del tratamiento (Henrique da Mota, L. et al, 2015)

El TNF $\alpha$  o Factor de Necrosis Tumoral alfa es una citosina proinflamatoria que ejerce distintas acciones sobre las células del cuerpo (como actividad citotóxica y

de inducción a apoptosis), que cumple un papel importante en enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide, artritis psoriásica y espondilitis anquilosante. Actualmente, existen 5 tipos de fármacos anti-TNF $\alpha$ : adalimumab (anticuerpo monoclonal humano), certolizumab pegol (molécula recombinante), etanercept (proteína de fusión), golimumab (anticuerpo monoclonal humano), e infliximab, siendo todos, a excepción del último de administración subcutánea. Este tipo de fármacos se administran como segunda alternativa tras una respuesta negativa con el tratamiento habitual (metrotexato) (Henrique da Mota, L. et al, 2015)

A raíz de la creación de una amplia gama de medicamentos para el tratamiento de la artritis reumatoide, actualmente se realizan planes de monitoreo e investigaciones que tienen como objetivo principal, proponer otras opciones terapéuticas que ayuden mayormente al paciente, eliminando paradigmas como el cambio de un fármaco del mismo grupo tras una falla inicial en la terapia (Corominas y Shmerling, 2017)

La terapia biológica es costosa y difícil de llevar a largo plazo, por esta razón, la creación de biosimilares ha sido una buena alternativa (Corominas y Shmerling, 2017).

La técnica de inmunoensayo ELISA ha sido uno de los métodos mayormente ocupados para la cuantificación de anticuerpos generados tras el consumo de dicho fármaco, ya que es una alternativa sensible, específica y baja en costos.

## INTRODUCCIÓN

Debido a las contraindicaciones presentadas por los biofármacos, algunos organismos como la Sociedad Brasileña de Reumatología decidieron recopilar en un documento los aspectos a considerar para la dosificación de estos fármacos, que van desde el mecanismo de acción, vida media, hasta la opinión de los expertos en la materia (Henrique da Mota, L. et al, 2015)

En Colombia se realizó una guía de evaluación de la inmunogenicidad, con la finalidad de ayudar a los fabricantes de fármacos biológicos en la parte del diseño y las pruebas para determinar la inmunogenicidad; hasta ahorita, este país ha sido el único en América Latina en crear una guía de este tipo. Se hizo basándose en lo escrito por la Agencia de Estados Unidos (FDA) y la Agencia Europea (EMA), señalando las determinaciones que se deben tomar al existir inmunogenicidad, desde la disminución de la dosis hasta el cambio de tratamiento, haciendo hincapié en la farmacovigilancia del medicamento que presente dicho problema (Ministerio de Salud, 2015)

Incluso en una conferencia llevada a cabo en Madrid en 2014 llamada “Inmunogenicidad de las terapias biológicas”, el doctor Pedro Herranz hablaba de la importancia en el sector económico de monitorear la inmunogenicidad producida por los fármacos anti-TNF $\alpha$  y de lo fundamental que es checar las concentraciones plasmáticas a la par. En otra conferencia impartida por el doctor Ángel Navarro Lima titulada “Presente y Futuro de los medicamentos biológicos y biosimilares” llevada a cabo en Madrid, hablaba de la regulación que tienen dichos fármacos en Europa, teniendo como mediadores el área de Farmacovigilancia y un Plan de Gestión de Riesgos, donde tienen un seguimiento adicional.

El presente trabajo tiene como finalidad determinar la inmunogenicidad provocada por el consumo de etanercept en personas con artritis reumatoide diagnosticada, manejando simultáneamente 2 kits ELISA de la marca PROmonitor<sup>®</sup>: uno donde se cuantifique la cantidad de etanercept circulante en el cuerpo y otro para determinar la cantidad de anticuerpos anti-TNF $\alpha$  generados.

# **CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO**

De la Torre y Valor definen la inmunogenicidad como “la capacidad de diferentes sustancias para desencadenar una respuesta inmunitaria adaptativa de tipo celular y humoral que a largo plazo constituye la memoria inmunológica” (Valor y de la Torre, 2013).

En los últimos años, y dentro de varias ramas de la medicina, se ha visto que el uso de fármacos contruidos por técnicas biotecnológicas ha propiciado la generación de una respuesta inmunitaria humoral y celular, como cualquier agente exógeno, (aunque solo se considera como un “proceso transitorio”) que puede estar sujeta a factores directamente relacionados con el paciente, la enfermedad y/o el producto; la preocupación radica en que dichos anticuerpos pueden generar distintas respuestas, desde reacciones menores como hipersensibilidad hasta la inhibición de actividad de dicho fármaco. (Valor y de la Torre, 2013)

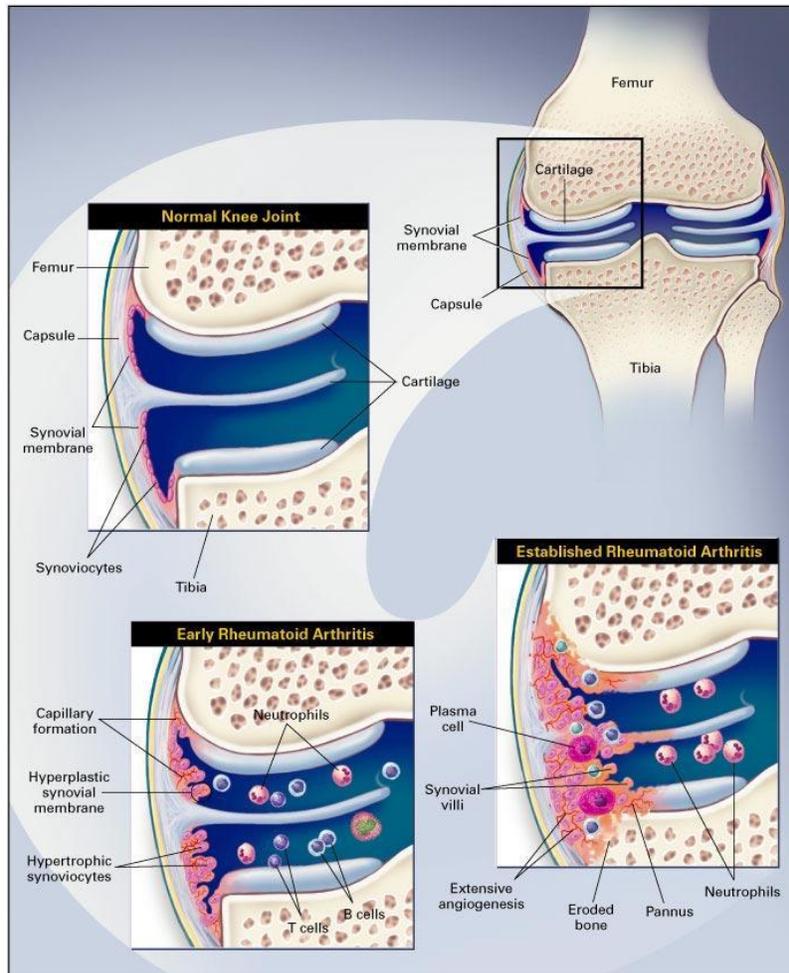
Un fármaco biotecnológico es aquel que se forma a través de células vivas por medio de ADN recombinante y los cuales fueron creados gracias al conocimiento que se tuvo de la relación entre la estructura y función de inmunoglobulinas. Se han creado anticuerpos monoclonales (que pueden ser quiméricos, con parte humana y animal; humanizados y completamente humanos) y proteínas de fusión (contienen dominios extracelulares, como los receptores de superficie unidos a otra molécula, donde esta última es la fracción constante de una inmunoglobulina; tiene como función inhibir de manera competitiva la unión de un ligando con su receptor y así evitar que se lleve a cabo la cascada de inflamación posterior). Los nuevos agentes biológicos tienen diferentes dianas, como una línea celular en específico o receptores de membrana, aunque se ha visto que dichos fármacos principalmente se dirigen al Factor de Necrosis Tumoral alfa, Interleucina 1, Interleucina 6, linfocitos B y T. (Catay y Soriano, 2014)

En la actualidad, se manejan 9 fármacos de origen biológico, de los cuales 7 son inhibidores de citosinas proinflamatorias (infliximab, tocilizumab, certolizumab, adalimumab, golimumab, etanercept y anakinra) y el resto actúan sobre los linfocitos B y T (rituximab y abatacept); todos ellos son considerados como medicamentos de primera y segunda línea (Catay y Soriano, 2014)

Los anticuerpos están formados por dos secciones: la parte fija, una zona variable y dos cadenas de polipéptidos: dos son ligeras y dos pesadas; en la parte variable de la cadena ligera es donde se llevan a cabo modificaciones para la formación de nuevos anticuerpos línea (Catay y Soriano, 2014).

La artritis reumatoide es una artropatía inflamatoria de articulaciones de carácter crónica y posiblemente multifactorial que genera principalmente dolor, deformidad y dificultad para el movimiento (Salinas et al., 2013). No se conocen las causas de esta enfermedad, pero se sabe que existen factores predisponentes como el tabaquismo, consumo excesivo de sal y obesidad. Debido a que esta enfermedad implica la participación de distintos factores del sistema inmunológico, su tratamiento llega a ser complejo. A pesar de los avances realizados con los fármacos biológicos, se ha visto que del 20-50% de los pacientes que siguen la terapia tienen una respuesta favorable, y de ellos, solo del 5-10% llegan a una remisión total (Castañeda y González, 2017)

Dicha enfermedad inicia cuando la membrana sinovial comienza a engrosarse debido a la hiperplasia e hipertrofia de las células que constituyen dicha membrana, formando así un tejido vascularizado llamado pannus, el cual invade y destruye el cartílago adyacente, y en ocasiones, el hueso. Dicho fenómeno provoca una infiltración de células a la membrana como los linfocitos T (principalmente TCD4+) y linfocitos B (López, 2011)



Imágen 1: Fisiopatología de la artritis reumatoide  
 Tomado de H.S.E. et al. *Cytokine Pathways and Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis*, 2001.

El elemento que cumple una función importante en el desarrollo de la artritis reumatoide es el Factor de Necrosis Tumoral alfa ( $TNF\alpha$ ) (Gómez, 2002), una citoquina pro-inflamatoria producida por monocitos y macrófagos sinoviales que al activarse por una enzima convertidora de  $TNF\alpha$ , se transforma en una proteína y después en  $TNF\alpha$  farmacológicamente activo (Tornero, 2002; Sánchez et al, 2017). Su actividad biológica comienza al interactuar con 2 receptores transmembranales: p55 y p75, los cuáles se expresan en casi todas las células (exceptuando los eritrocitos), activando así distintas vías de señalización y síntesis de diversas citoquinas, en especial las Interleucina 1, 6 y 8 (Gómez, 2002; Tornero,

2002; Sánchez et al, 2017). También provoca la liberación de prostaglandinas y colagenasa, quien destruye al cartílago (Gómez, 2002; López, 2011)

Dicho factor tiene dos receptores ( $\text{TNF}\alpha\text{-R1}$  y  $\text{TNF}\alpha\text{-R2}$ ), los cuáles se encuentran en la membrana celular; uno de ellos funciona como un antagonista funcional del mismo, cumpliendo así como el regulador homeostático de  $\text{TNF}\alpha$ : a mayor presencia de receptores, menor cantidad de  $\text{TNF}\alpha$  habrá (Gómez, 2002; López, 2011)

Otros estudios incluso han indicado que  $\text{TNF}\alpha$  no solo está involucrado en la parte inflamatoria de AR, sino que también provoca otros procesos pro-inflamatorios (Gómez, 2002). Se han hecho distintas pruebas *in vitro* que han demostrado el papel importante del  $\text{TNF}\alpha$  en los procesos inflamatorios, donde se han ocupado anti- $\text{TNF}\alpha$  como fármacos, mostrando así una disminución del Factor y de otras citosinas (Gómez, 2002)

Desde la aparición de una mayor cantidad de casos con personas que padecían artritis reumatoide, la medicina tuvo la necesidad de crear criterios para distinguirla de otras artropatías, así que, en 1987 se crearon los criterios ACR (American College of Rheumatology) y EULAR (European League Against Rheumatism) (Ugarte et al, 2013)

Existen como tal, 3 métodos para evaluar la respuesta al tratamiento en la artritis reumatoide:

1.- DAS28 (Disease Activity Score), el cual se basa en 4 criterios: número de articulaciones dolorosas sobre un número de 28 (TEN28), cantidad de articulaciones tumefactas (SW28), velocidad de sedimentación globular (VSG) y el estado general del paciente (GH). Para obtener el puntaje total, se necesita la siguiente fórmula:  $\text{DAS28} = 0.56\sqrt{\text{TEN28}} + 0.28\sqrt{\text{SW28}} + 0.70\ln(\text{VSG}) + 0.014(\text{GH})$ . El intervalo va de 0 a 11, donde el 0 significa una ausencia de actividad en la enfermedad, y el 11 una actividad máxima de la misma (Bernal et al, 2006)

La diferencia entre DAS y DAS28 está en el número de articulaciones que se incluyen: 28 en DAS28 y 44 en DAS. Usando DAS28, la actividad del paciente se categoriza en remisión (menor a 2.6), actividad leve (entre 2.6 y 3.2), actividad moderada (3.2 a 5.1) y actividad severa (mayor a 5.1) (Ugarte et al, 2013)

2.- EULAR: Clasifica a la enfermedad en 3 puntos: ninguna, moderada y buena; podemos obtener un resultado final al sacar la diferencia entre el valor del DAS28 al inicio y al finalizar el tratamiento, al igual que el valor absoluto de la puntuación final del DAS28. Este método usa como base los criterios DAS28, la mejoría del paciente y su situación actual (Bernal et al, 2006)

Valor final de DAS28	Cambio de DAS28 respecto al valor basal		
	>1.2	>0.6 ≤ 1.2	≤ 0.6
DAS28 ≤ 3.2	Buena	Moderada	Ninguna
DAS28 > 3.2 y ≤ 5.1	Moderada	Moderada	Ninguna
DAS28 > 5.1	Moderada	Ninguna	Ninguna

Tabla 1: Criterios DAS28 tomados para la prueba EULAR. **DAS28**: Disease Activity Score. Tomado de Bernal et al. *Efectividad y seguridad de adalimumab y etanercept en artritis reumatoide en un hospital de tercer nivel*, 2006.

3.- ACR: Estos criterios fueron propuestos por American College of Rheumatology; dicho método evalúa la mejoría de los pacientes en ensayos clínicos, y designan el porcentaje de mejoría en base a articulaciones inflamadas (tomando como referencia 66), dolorosas (tomando 68) y considerando 3 de los siguientes puntos:

-EVA (escala visual analógica) de actividad evaluada por el paciente (0 = sin actividad, 100 = actividad máxima).

-EVA de actividad evaluada por el médico (0 = sin actividad, 100 = actividad máxima).

-EVA de dolor (0 = ausencia de dolor, 100 = dolor máximo).

-Otros parámetros dados en la fase aguda, como velocidad de sedimentación globular en mm/h o proteína C reactiva (PCR), principalmente en mg/l24.

-Función física: Cuestionario de incapacidad HAQ (Health Assessment Questionnaire) (0 = sin limitaciones en la función física, 3 = limitación máxima).

Una mejoría igual o superior al 20% tomando en cuenta las variables indicadas significa un ACR 20, una del 50% es ACR 50 y del 70% resulta ACR 70 (Bernal et al, 2006)

El puntaje de Sharp por van der Heijde y por Genant son aquellos puntos que se utilizan para la evaluación en radiografía de las articulaciones, los cuales evalúan erosiones y la disminución del espacio articular. Este último casi no es considerado en la práctica clínica. (Ugarte et al, 2013)

En 2010 se hicieron modificaciones a los criterios EULAR y ACR con el principal objetivo de dar un tratamiento temprano en los pacientes con artritis reumatoide, ya que los formados inicialmente solo ayudan a distinguir a esta enfermedad de otras atropatías. Otra razón por la que se realizaron dichos cambios es porque algunas investigaciones han arrojado resultados que generan una modificación en la dosificación de los fármacos (EULAR antes consideraba que se necesitaba medicar con FARME a pesar de no tener un diagnóstico establecido). Los nuevos criterios establecidos fueron los siguientes:

-Presentar al menos 1 articulación inflamada (sinovitis clínica) y que no tenga relación alguna con otra enfermedad.

-Contar con una puntuación igual o superior a 6 en base a:

Afectación en articulaciones		Serología		Duración	
Criterio	Puntuación	Criterio	Puntuación	Criterio	Puntuación
1 articulación grande afectada	0	FR y ACPA negativos	0	<6 semanas	0
2-10 articulaciones grandes afectadas	1	FC y/o ACPA positivos bajos (<3 VN)	2	≥6 semanas	1
1-3 articulaciones pequeñas afectadas	2	FR y/o ACPA positivos alto (>3 VN) Reactantes de fase aguda	3		
4-10 articulaciones pequeñas afectadas	3	VSG y PCR normales	0		
>10 articulaciones pequeñas afectadas	5	VSG y/o PCR elevadas	1		

Tabla 2: Modificaciones en EULAR y ACR para clasificación de la artritis reumatoide. **FR:** factor reumático. **ACPA.** **VN.** **VSG:** velocidad de sedimentación globular.

Tomado de Gómez, A. *Nuevos criterios de clasificación de artritis reumatoide*, 2011

Si alguien presenta artritis reumatoide avanzada, estos criterios también son válidos siempre y cuando:

-Tengan erosiones relacionadas a la enfermedad.

-Tenga una enfermedad crónica donde sus datos clínicos sean apegados a los considerados para la artritis reumatoide.

-Con personas que tengan artritis inicial, pero que con el paso del tiempo, adquieran sintomatología de la enfermedad como tal. (Gómez, 2011)

El tratamiento de esta enfermedad puede dividirse en 3 grupos:

- 1.- Antiinflamatorios no esteroideos, glucocorticoides y analgésicos para corto plazo y sin impacto en la evolución de la enfermedad.
- 2.- Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FARME), los cuales no se enfocan en aminorar el dolor, si no en disminuir el desarrollo del padecimiento; algunos ejemplos son el metotrexato y la sulfasalazina.
- 3.- Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad biológicos, donde se encuentran los antagonistas del  $TNF\alpha$  (anti $TNF\alpha$ ), terapia anti-CD20 y terapia anti-IL-6, los cuáles son usados cuando los pacientes no responden positivamente a los FARME (Salinas et al, 2013; Sánchez et al, 2017).

Se ha visto que los biofármacos anti- $TNF\alpha$  han desarrollado anticuerpos anti-fármaco (anti-human chimeric antibody; HACA), y otros también generan niveles plasmáticos bajos del producto consumido (Lara y de la Torre, 2013). Un ejemplo es el etanercept (ETN), proteína de fusión obtenida por técnicas de ADN recombinante con dos copias (cadenas idénticas monoméricas recombinantes) del receptor humano p75 del TNF, fusionada con el péptido Fc de la IgG1 humana, quien al tener 2 copias del receptor, se puede unir a 2 moléculas de  $TNF\alpha$ , bloqueando la posibilidad de que dicho medicamento interaccione completamente con el receptor, volviéndolo así biológicamente inactivo (la afinidad entre ETN y TNF es casi 1000 veces superior a la del inhibidor natural y su tiempo de permanencia es 5 veces mayor). Este fármaco que se comercializa con el nombre de Enbrel<sup>®</sup>, tiene eficacia similar al infliximab, contiene 134 aminoácidos, tiene un peso molecular de 150 Kd, su consumo es vía subcutánea, aunque su biodisponibilidad es mejor por vía intravenosa (58% vs 100%) tiene una vida media de 70-102 horas, una concentración máxima que se alcanza de las 48-70 horas, su farmacocinética no se altera por elementos como el sexo, la edad y raza, su aclaramiento es lento y no es alterable tras un problema renal o de insuficiencia cardiaca. También es ocupado en artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil y espondilitis anquilosante,

fue el primer medicamento en EUA y segundo en Europa en ser aprobado para el tratamiento de artritis reumatoide, no se recomienda suspender el tratamiento a pesar de existir remisión (se recomienda solo bajar la dosis o darla en tiempos prolongados); por su naturaleza, no es recomendable darle este tratamiento a personas que padecen de insuficiencia cardiaca, con antecedentes de enfermedades desmielinizantes, infecciones agudas o crónicas activas. En general, los anti-TNF $\alpha$  han mostrado una buena respuesta clínica en los pacientes. (Torneró, 2002; López, 2011; Catay y Soriano, 2014).

De acuerdo a los ensayos clínicos realizados, se ha demostrado que la mejor opción de dosificación son 25 mg inyectados de manera subcutánea 2 veces a la semana, sin importar el estadio de la enfermedad; la respuesta terapéutica se ve a partir de las dos primeras semanas con el tratamiento, y se puede extender hasta los 4 años. De igual forma, existe una respuesta favorable si etanercept se dosifica en conjunto con metrotexato (Torneró, 2002)

Debido al problema de inmunogenicidad, se han propuesto distintas alternativas en el laboratorio para la detección de estos anticuerpos, como el método ELISA.

La técnica ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) es un método sencillo, preciso, específico y sensible que identifica inmunocomplejos a través de enzimas que se unen al antígeno o al anticuerpo, donde uno de ellos se encuentra fijo en una placa polimérica. Existen diversos tipos de ELISAs, pero los pasos en común que tiene cada uno es la unión del antígeno o anticuerpo a la placa, los lavados o métodos de separación, formación del inmunocomplejo y la adición de una enzima que genere color. Una de las ventajas que tiene este método por encima de otros es la facilidad con la que se puede manejar, el tipo de reactivos que se usan y la cantidad de muestras que se pueden analizar.

De acuerdo a la actividad enzimática, el método ELISA se divide de la siguiente forma:

1.- Competitivo: Existe una competencia entre el antígeno a cuantificar y cantidades conocidas de antígeno que se encuentra marcado por una enzima, el cual se une al anticuerpo unido a la placa; ambos tienen la capacidad de juntarse a él, así que entre mayor cantidad de antígeno se encuentre en la muestra, menor cantidad del antígeno marcado se unirá a la placa. Este a su vez, tiene 2 tipos:

-De un solo paso: Ambos antígenos (marcado y de la muestra), compiten por una cantidad de anticuerpo.

-De dos pasos: Existe más concentración de anticuerpo que de antígeno; primero el anticuerpo se incuba con muestra que tenga antígenos y posteriormente, se agrega el antígeno marcado; son mayormente sensibles que los de primer paso.

2.- No competitivo: Se basa en la formación del complejo antígeno-anticuerpo, donde cualquiera de los dos se encuentra fijado en la placa; el complejo formado se hace reaccionar con un conjugado y tendrá que producir un color. Este, a su vez, tiene 4 subtipos:

-ELISA directo: Detecta antígenos, que al adsorber sobre la placa, se detectan por medio de un anticuerpo anti-Ag marcado; se siguen 3 pasos: reconocimiento de la placa de los antígenos que contiene la muestra, adición del anticuerpo anti-Ag marcado con una enzima que reacciona con un substrato, dando color y cuantificación de muestras en espectrofotómetro con lavados intermedios.

-ELISA indirecto: Se detectan antígenos y anticuerpos, donde el antígeno se incuba en un tampón y se adsorbe en las paredes de la placa, el antígeno y anticuerpos libres son lavados, reaccionando los antígenos que se encuentran en la placa y los anticuerpos específicos; el complejo que se forma se detecta por medio de un anticuerpo marcado con una enzima, el cual es capaz de detectar distintos anticuerpos; al agregar el conjugado, este se une al anticuerpo de la muestra y con la adición de un cromógeno, se puede detectar la cantidad de anticuerpos en la misma

-ELISA tipo sándwich: de este existen 2 tipos:

1.- ELISA sándwich doble o DAS, de donde existen también dos subtipos:

\* ELISA sándwich de doble anticuerpo: Es usado para la detección de antígenos; se requieren de dos tipos de anticuerpos: uno en la placa y otro unido a una enzima, los cuáles se pueden unir a distintos epítomos diferentes del antígeno; la muestra que lo contiene se incuba con el anticuerpo específico al antígeno, formando así un complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo; si reacciona un antígeno con los anticuerpos adsorbidos, la prueba se considera positiva.

\* ELISA sándwich de doble antígeno: Detecta anticuerpos y evalúa la respuesta inmune inducida por vacunas; el proceso es similar al tipo indirecto, pero en vez de usar un anti-Ig-enzima, se ocupa un Ag-enzima.

2.- ELISA Sandwich heterólogo "HADAS": Se encuentran fijados al soporte los anticuerpos del antígeno que se desea detectar; adición de muestra con los antígenos correspondientes que reaccionarán con los anticuerpos, incorporación de anticuerpos específicos con diferente epítomo de los que se encuentran fijados, reaccionan con los antígenos de la muestra ya fijados, adición de anticuerpos con una enzima Anti-Anticuerpo y adición de un sustrato que reaccionará con la enzima (cada paso lleva un lavado intermedio)

Al ser un método sensible y específico, existen elementos que se necesitan usar correctamente para obtener resultados apegados a la realidad; estos pueden ser:

1.- Adsorción: La base debe ser de un material de fácil manejo, con fondos transparentes y que aquello que se una, se mantenga reactivo, estable y estéril durante una cantidad de tiempo. El material más usado es el poliestireno; incluso las placas han aumentado de cantidad de pocillos para determinación de muestras.

2.- Lavados: Deben hacerse completos, ya que, de esa manera, se elimina todo aquello que no se haya unido a la placa y no interfiere en los resultados.

3.- Incubación y temperaturas: Cualquier cambio en la metodología indicada en los kits, provocaría una alteración en los resultados; es necesario trabajar en las condiciones requeridas y con equipos calibrados.

4.- Enzimas y sustratos: Las enzimas son ocupadas por su especificidad, poder catalítico, amplio espectro de sustratos a usar y la estabilidad de los conjugados; se necesita indagar en distintos aspectos del ensayo para saber qué enzima usar; algunas de las más utilizadas son: peroxidasa, fosfatasa alcalina,  $\beta$ -galactosidasa, glucosa oxidasa, etc.

5.- Antígenos y anticuerpos: Deben ser de calidad y pureza garantizada, acompañada de un certificado de análisis que lo avale.

6.- Lectores de ELISA: Como cualquier equipo, debe estar calibrado y en buen estado; se debe tener precaución, ya que existen espectrofotómetros que hacen lecturas a una sola longitud de onda, basándose en las enzimas mayormente usadas (Suárez, 2017)

Dependiendo de aquello que se quiera cuantificar o localizar, existen distintos tipos de ELISA; para la detección de anticuerpos anti-ETN, se requiere trabajar simultáneamente con otro kit que pueda cuantificar la cantidad del fármaco ETN libre en la circulación; los resultados de ambos pueden ayudar para darle una explicación a la parte clínica del paciente (inserto del kit)

## **2. Planteamiento del problema**

Los problemas a nivel inmunológico generados por los fármacos biotecnológicos han generado que los investigadores indaguen en las causas, las actividades farmacológicas de cada fármaco, la respuesta de la enfermedad tras la terapia, entre otras cosas, incluso en 1987 se crearon criterios, como EULAR y ACR que clasifican a la artritis reumatoide; a raíz de todos los problemas originados por el consumo de dichos medicamentos. En el 2010 se realizaron modificaciones que han impulsado la detección de artritis temprana y han propuesto diferenciar entre dicha artropatía y una simple sinovitis.

Etanercept es un fármaco que se considera generador de anticuerpos no neutralizantes, por lo tanto, en teoría, no afectan a la actividad del mismo, aunque es necesario saber identificar si sigue generando dicha respuesta.

Diversas investigaciones que tienen como finalidad la detección de anticuerpos generados tras el consumo de fármacos biológicos, han usado el método ELISA como fuente de trabajo.

### **3. Justificación**

La artritis reumatoide es un tipo de artropatía de la que se desconocen sus causas; existen estudios donde se considera una enfermedad multifactorial, lo que la vuelve compleja para tratar.

Según investigaciones realizadas en el año 2016, se reporta que la artritis reumatoide es la artropatía más común a nivel mundial, donde afecta a aproximadamente 1% de la población en general, estando el 0.5% concentrado en América Latina, lo que, para nuestro país supone un problema al cual darle seguimiento (Sánchez et al, 2017). Investigaciones epidemiológicas detallan una incidencia de 20 a 50 casos por 100,000 habitantes por año y prevalencia del 1%. (Molina, 2007)

Desde la creación de los biofármacos, este tipo de enfermedades se han estado tratando con dicho tipo de fármacos, solo que después de algunas investigaciones realizadas, se han denotado ciertas respuestas secundarias por el consumo del mismo, entre ellas la formación de posibles anticuerpos. Lo importante en esta situación es saber si en la mayoría de los consumidores se sucita este fenómeno, la cantidad de medicamento que prevalece en el sistema y el impacto que tiene en la terapia.

Estudios revelan la aparición de anticuerpos anti-ETN $\alpha$  en 0-18% sin representar ningún problema en la actividad del etanercept (Henrique da Mota, L. et al, 2015) Uno de los métodos más empleados para la detección de esta respuesta es el

método ELISA, ya que se conoce como un procedimiento con alto porcentaje de confiabilidad gracias a su sensibilidad y eficacia.

Es necesario conocer esta información dentro del área clínica, ya que ayuda a los médicos a determinar qué tipo de tratamiento requiere el paciente; de igual forma, se sabe que no existe información vasta del tema, por ello es necesario llevarlo a cabo; el método ELISA es una buena fuente para realizarlo de manera fácil, rápida y con un costo accesible.

#### **4. Hipótesis**

La detección de inmunogenicidad de un Anti- TNF $\alpha$  (etanercept), permitirá conocer la formación de anticuerpos contra etanercept por medio de la técnica ELISA.

#### **5. Objetivo general**

Determinar la inmunogenicidad generada por administración de Anti-TNF (etanercept) mediante la formación de anticuerpos por medio de la técnica ELISA.

#### **6. Objetivos específicos**

- Analizar la cantidad de Anti- TNF $\alpha$  (etanercept) que se encuentra en el suero de los pacientes con esta terapia.
- Analizar la cantidad de anticuerpos anti-etanercept que se encuentran en el suero de los pacientes con esta terapia.

# **CAPÍTULO 2: MARCO METODOLÓGICO**

## **2.1 Materiales y métodos**

Todos los datos de los pacientes fueron obtenidos de la base de datos del Laboratorio Clínico del Centro Médico ISSEMYM.

***Campo de estudio:*** Laboratorio Clínico del Centro Médico ISSEMYM.

***Área:*** Fueron seleccionados todos los servicios donde ingresaron los pacientes con solicitud de Biometría Hemática Completa y Perfil Reumático.

### **2.1.1 Tipo de estudio**

Retrospectivo transversal experimental.

### **2.1.2 Definición de datos (Universo)**

Se revisó la base de datos del Laboratorio Clínico del Centro Médico ISSEMYM de 19 pacientes registrados, tomando como referencia todos aquellos con previo consumo de Etanercept. Los pacientes fueron seleccionados por los médicos especialistas tratantes.

### **2.1.3 Tamaño de muestra**

Comprende una población de 19 muestras.

## **2.2 Criterios metodológicos**

### **2.2.1 Criterios de inclusión**

- Pacientes notificados con tratamiento previo de Etanercept

### **2.2.2 Criterios de exclusión**

- Pacientes con alguna enfermedad reumática que no se esté tratando con Etanercept.

### **2.2.3 Criterios de eliminación**

- Pacientes sin registro en el Centro Médico ISSEMYM.
- Muestras de pacientes hemolizadas, mal tomadas o sin identificación.
- Kits caducados, sin refrigeración o incompletos.

### 2.3 Diagrama de flujo



### 2.4 Metodología

### 2.4.1 Análisis estadístico

Los datos estadísticos de lo resultante en ambos kits se obtuvieron con el programa MyAssays Analysis Software Solutions por medio de la creación de una curva de calibración e interpolación de los datos obtenidos de cada muestra (ecuación de la recta), las edades se clasificaron en base a rangos de edad, empleando los datos de media aritmética, rango, moda, porcentaje por etapa y sexo; para los datos clínicos de cada paciente, se empleó la media aritmética y la desviación estándar, quienes después se clasificaron por edad y sexo, usando aquí el porcentaje

### 2.5 Ética de la investigación

El presente trabajo de Tesis adopta un criterio científico, moral y ético con respecto a los datos obtenidos de los pacientes afiliados al Centro Médico ISSEMYM, por tal motivo, se encuentra dentro del marco legal dictado por la Declaración del Código de Helsinki (2013) proveniente de la Asociación Médica Mundial (AMM). Por tanto, los datos recabados durante esta investigación serán tratados de acuerdo con la política de ética y moral del Centro Médico ISEMMYM tomando en cuenta las excepciones que este realiza, las cuales son previstas por el artículo 21 de la Ley de Protección de Datos Personales del Estado de México. Este trabajo está registrado y aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Centro Médico ISSEMYM.

### 2.6 Operacionalización de variables

*-Operacionalización de Variables continuas y discretas*

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Escala de medición</b>
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	Tiempo transcurrido desde el momento del nacimiento hasta la fecha del estudio.	Cuantitativa continua	Adulto joven, maduro y mayor
<b>Sexo</b>	Conjunto de peculiaridades que identifican a los individuos dividiéndolos en masculinos y femeninos		Cualitativa discreta	Femenino y masculino

-Operacionalización de Variables de Estudio

<b>Variable</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Definición</b>
<b>Etanercept en circulación</b>	Cuantitativa	Medicamento empleado para el tratamiento principalmente, de artritis reumatoide, que tiene como mecanismo de acción, la inhibición de actividad del TNF.
<b>Títulos de Etanercept</b>	Cuantitativa	Nivel de anticuerpos en un organismo originados por el consumo de Etanercept.
<b>Antiestreptolisinas</b>	Cuantitativa	Anticuerpos generados por alguna infección (principalmente en invasión por <i>Streptococcus pyogenes</i> )
<b>Proteína "C" reactiva</b>	Cuantitativa	Proteína de fase aguda que se forma tras existir un daño a nivel tisular por inflamación, infección o neoplasia. Aumeta en las primeras 6-8 horas y disminuye después de 9 horas, aunque en padecimientos como la artritis reumatoide, el valor se mantiene con el tiempo. Es concurrencia para determinar inflamaciones con tiempo de existencia y no cambia con el tiempo ni edad.
<b>Factor reumatoide</b>	Cuantitativa	Anticuerpo que aparece en la Artritis reumatoide de un 70-90% de los pacientes; normalmente su aparición indica un estado severo de la enfermedad y su aumento está asociado a la destrucción ósea rápida.
<b>Velocidad de sedimentación globular</b>	Cuantitativa	Prueba inespecífica mayormente usada en el área clínica que valora la cantidad de proteínas (por medio de la sedimentación) en un proceso inflamatorio agudo. Su valor depende de distintos factores, como la presencia de fibrinógeno, cantidad y calidad de eritrocitos, Inmunoglobulinas, edad y sexo de las personas- Evalúa el progreso de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.
<b>Leucocitos</b>	Cuantitativa	Células nucleadas originadas en la médula ósea que participan en la actividad inmunitaria adaptativa; incluye los neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y linfocitos.
<b>Eritrocitos</b>	Cuantitativa	Células sin núcleo en forma de disco bicóncavo originadas en la médula ósea que contienen a la hemoglobina.
<b>Linfocitos</b>	Cuantitativa	Célula inmunitaria y tipo de glóbulo blanco que se forma en la médula ósea. Existen dos tipos de linfocitos: B (elabora anticuerpos) y T (destruye células tumorales y controla las respuestas inmunitarias)
<b>Neutrófilos</b>	Cuantitativa	Glóbulo blanco de carácter inmunológico, granulocito y fagocito que ayuda en la erradicación de una infección por medio de la segregación de enzimas.
<b>Monocitos</b>	Cuantitativa	Glóbulo blanco que se elabora en la médula ósea y viaja a través de la circulación hasta llegar a los tejidos, donde se transforma en macrófago. Es de naturaleza fagocítica, ya que destruye aquellos organismos exógenos por medio de la ingestión del mismo.
<b>Basófilos</b>	Cuantitativa	Célula inmunitaria de carácter granulocítica que libera sus enzimas en fenómenos como la alergia y el asma.
<b>Eosinófilos</b>	Cuantitativa	Tipo de glóbulo blanco granulocítico que libera sus enzimas en presencia de asma, alergias e infecciones, principalmente parasitarias.
<b>Plaquetas</b>	Cuantitativa	Células sin núcleo en forma de disco oblongo que participan en la coagulación y reparación de vasos sanguíneos dañados.

<b>Hemoglobina</b>	Cuantitativa	Proteína que se encuentra dentro de los eritrocitos, la cual le da el color rojo a dicha célula y se encarga de transportar el oxígeno al cuerpo.
<b>Hematocrito</b>	Cuantitativa	Relación que existe entre el total de sangre y la cantidad de glóbulos existentes; se marca con porcentaje.
<b>VCM (Volumen corpuscular medio)</b>	Cuantitativa	Índice eritrocitario que indica el tamaño del eritrocito, se mide en femtolitros (fL) y clasifica a la anemia en normocítica, microcítica o macrocítica.
<b>HCM (Hemoglobina corpuscular media)</b>	Cuantitativa	Índice eritrocitario que denota la cantidad de hemoglobina en un eritrocito; se mide en picogramos (pg)
<b>CHCM (Concentración media de hemoglobina corpuscular)</b>	Cuantitativa	Índice eritrocitario que indica el promedio de la concentración de hemoglobina en 100 ml de eritrocitos, se expresa en g/dl y junto a la HCM, clasifica a las anemias en normocrómicas, hipocrómicas o hiperocrómicas.
<b>RDW (Amplitud de distribución eritrocitaria)</b>	Cuantitativa	Análisis que mide la variación en el volumen y el tamaño de los eritrocitos.
<b>MPV (Volúmen Plaquetario Medio)</b>	Cuantitativa	Análisis que mide la variación en el volumen y el tamaño de las plaquetas.

## **CAPÍTULO 3: RESULTADOS**

Se recabaron las muestras sanguíneas de 20 pacientes del Centro Médico ISSEMYM, donde todas fueron procesadas en 2 kits de la empresa PROGENIKA llamados PROmonitor ETN y anti-ETN, del lote 5120200000.

Para llevar a cabo el procesamiento de muestras, se hicieron previas diluciones del suero de cada una dependiendo del kit que se usara: en el kit ETN se ocuparon muestras con diluciones 1:10 y 1:200 y en el kit anti-ETN fueron de 1:2 y 1:10.

En cada placa, aparte de trabajar con las muestras de los pacientes, se usaron 6 calibradores con concentraciones conocidas (Tablas 1 y 2); de igual forma, se ocuparon 2 controles, uno positivo y otro negativo, cada uno útil para el control de calidad de la prueba (Tablas 3 y 4). Tanto los calibradores, como los viales de control de calidad fueron procesados por duplicado.

Cada calibrador, muestra y vial de control de calidad tenían una posición en específico dentro de la prueba (Imágenes 1 Y 2).

Calibrador	Concentración (ng/mL)
A	200
B	50
C	25
D	12.5
E	6.2
F	3.1

**Tabla 5.** Calibradores y concentraciones de cada uno en ng/ ml para el kit ETN, las cuáles se usarán para la curva de calibración.

Calibrador	Concentración (UA/mL)
A	450
B	300
C	200
D	135
E	90
F	60

**Tabla 6.** Calibradores y concentraciones de cada uno en UA/ ml para el kit anti-ETN, las cuáles se usarán para la curva de calibración.

Control	Dilución	Pocillo	Abs	Abs promedio	Validación	Resultado
PC	-	G1	0.523	0.581	PC $\geq$ ETN CAL4 (D)	APROBADO
		G2	0.638			
NC	-	H1	0.081	0.082	NC < ETN CAL6 (F)	APROBADO
		H2	0.083			

**Tabla 7.** Control de calidad del kit ETN; para validar el ensayo, la absorbancia media del NC debía ser menor a la absorbancia media del CAL-F y la absorbancia media del PC debía ser menor a la absorbancia media del CAL-D. **PC:** Control Positivo. **NC:** Control Negativo. **Abs:** Absorbancia. **ETN:** Etanercept.

Calibrador	Dilución	Pocillo	Abs	Abs promedio	Validación	Resultado
PC	-	G1	1.82	1.74	PC $\geq$ anti-ETN CAL4 (D)	APROBADO
		G2	1.66			
NC	-	H1	0.073	0.0585	NC < anti-ETN CAL6 (F)	APROBADO
		H2	0.044			

**Tabla 8.** Control de calidad del kit anti-ETN; para validar el ensayo, la absorbancia media del NC debía ser menor a la absorbancia media del CAL-F y la absorbancia media del PC debía ser menor a la absorbancia media del CAL-D. **PC:** Control Positivo. **NC:** Control Negativo. **Abs:** Absorbancia. **ETN:** Etanercept.

	1	2	3	4	5	6	7
A	CAL-A	CAL-A	S1 1:10	S5 1:10	S9 1:10	S13 1:10	S17 1:10
B	CAL-B	CAL-B	S1 1:200	S5 1:200	S9 1:200	S13 1:200	S17 1:200
C	CAL-C	CAL-C	S2 1:10	S6 1:10	S10 1:10	S14 1:10	S18 1:10
D	CAL-D	CAL-D	S2 1:200	S6 1:200	S10 1:200	S14 1:200	S18 1:200
E	CAL-E	CAL-E	S3 1:10	S7 1:10	S11 1:10	S15 1:10	S19 1:10
F	CAL-F	CAL-F	S3 1:200	S7 1:200	S11 1:200	S15 1:200	S19 1:200
G	PC	PC	S4 1:10	S8 1:10	S12 1:10	S16 1:10	S20 1:10
H	NC	NC	S4 1:200	S8 1:200	S12 1:200	S16 1:200	S20 1:200

**Imagen 2.** Posición de cada calibrador, controles y muestras en el kit ETN. **CAL:** Calibrador. **PC:** Control Positivo. **NC:** Control Negativo. **S:** Suero del paciente.

	1	2	3	4	5	6	7
A	CAL-A	CAL-A	S1 1:2	S5 1:2	S9 1:2	S13 1:2	S17 1:2
B	CAL-B	CAL-B	S1 1:10	S5 1:10	S9 1:10	S13 1:10	S17 1:10
C	CAL-C	CAL-C	S2 1:2	S6 1:2	S10 1:2	S14 1:2	S18 1:2
D	CAL-D	CAL-D	S2 1:10	S6 1:10	S10 1:10	S14 1:10	S18 1:1'
E	CAL-E	CAL-E	S3 1:2	S7 1:2	S11 1:2	S15 1:2	S19 1:2
F	CAL-F	CAL-F	S3 1:10	S7 1:10	S11 1:10	S15 1:10	S19 1:10
G	PC	PC	S4 1:2	S8 1:2	S12 1:2	S16 1:2	S20 1:2
H	NC	NC	S4 1:10	S8 1:10	S12 1:10	S16 1:10	S20 1:10

**Imagen 3.** Posición de cada calibrador, controles y muestras en el kit anti-ETN. **CAL:** Calibrador. **PC:** Control Positivo. **NC:** Control Negativo. **S:** Suero del paciente.

Terminado de procesar las muestras, controles y calibradores, ambas placas fueron leídas en un lector de ELISA con longitud de onda de 450 nm, para obtener las absorbancias de cada una. El promedio de las absorbancias obtenidas de cada calibrador (Tablas 5 y 6) junto con sus concentraciones fueron usadas para construir las respectivas curvas de calibración (Gráficas 1 y 2). Para realizarlas, se ocupó el programa estadístico MyAssays Analysis Software Solutions, donde cada curva fue ajustada por el método de regresión logística de 4 parámetros.

Absorbancias 1	Absorbancias 2	Absorbancia promedio
A1: 2.293	A2: 2.375	2.334
B1: 0.949	B2: 0.960	0.954
C1: 0.590	C2: 0.666	0.628
D1: 0.355	D2: 0.336	0.345
E1: 0.306	E2: 0.433	0.369
F1: 0.299	F2: 0.284	0.291
G1: 0.523	G2: 0.638	0.580
H1: 0.081	H2: 0.083	0.082

**Tabla 9.** Resultado de las absorbancias obtenidas en el kit ETN hechas por duplicado y la absorbancia promedio.

\*Azul: Para graficar

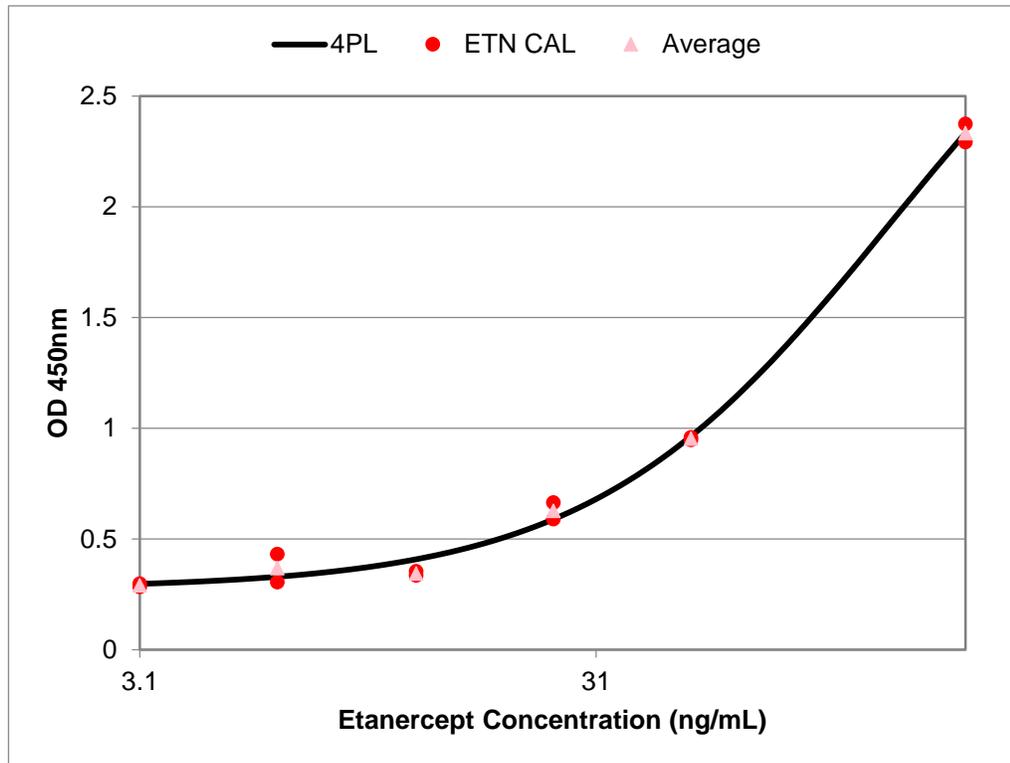
\*Verde: Calibrador positivo y negativo

Absorbancias 1	Absorbancias 2	Absorbancia promedio
A1: 2.355	A2: 2.557	2.456
B1: 1.846	B2: 1.312	1.579
C1: 1.112	C2: 1.059	1.085
D1: 0.718	D2: 0.703	0.710
E1: 0.419	E2: 0.280	0.349
F1: 0.284	F2: 0.240	0.262
G1: 1.819	G2: 1.656	1.737
H1: 0.073	H2: 0.044	0.058

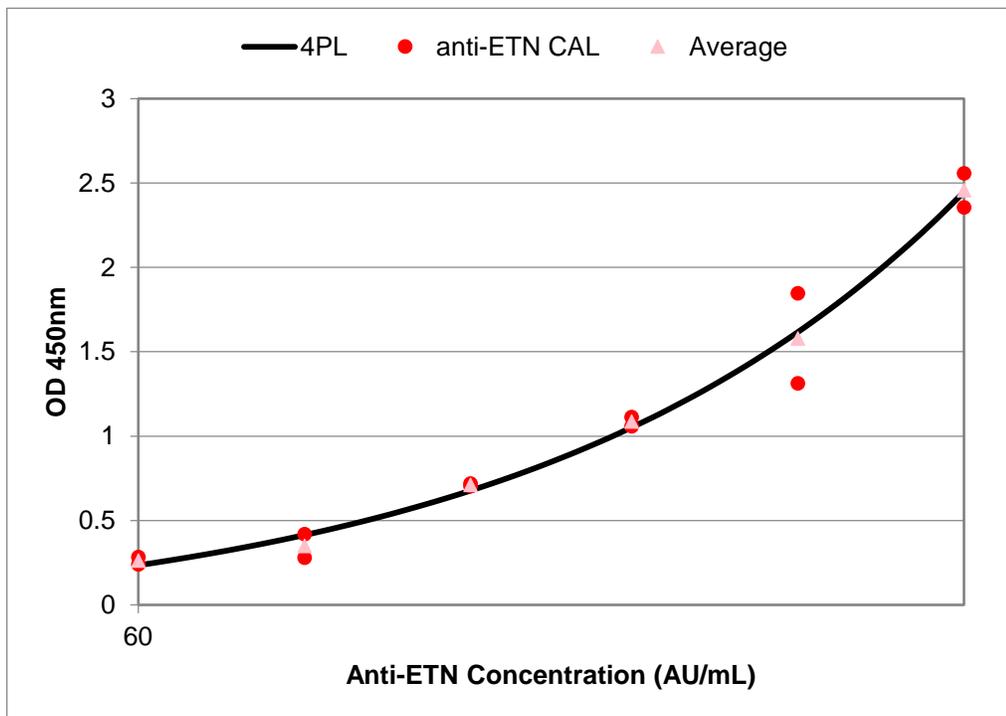
**Tabla 10.** Resultado de las absorbancias obtenidas en el kit anti-ETN hechas por duplicado y la absorbancia promedio.

\*Azul: Para graficar

\*Verde: Controles positivo y negativo



**Gráfica 1.** Gráfica realizada para el kit ETN donde se tomaron en cuenta las concentraciones conocidas de los calibradores y el promedio de las absorbancias.  $R^2= 0.9977$ . **4PL:** Regresión Logística de 4 parámetros



**Gráfica 2.** Gráfica realizada para el kit anti-ETN donde se tomaron en cuenta las concentraciones conocidas de los calibradores y el promedio de las absorbancias.  $R^2= 0.9975$ . **4PL:** Regresión Logística de 4 parámetros

De manera simultánea, se obtuvieron las absorbancias de cada dilución de muestra; estos resultados fueron interpolados en las anteriores gráficas con ayuda del programa MyAssays Analysis Software Solutions para así, tener las concentraciones de cada una (Tablas 7 y 9). La interpretación fue obtenida en base a los valores de referencia proporcionados en el kit (Ver Tablas 8 y 10)

Muestra	Dilución	Pocillo	Abs	Co. Interpolada (µg/ml)	Co. Real (µg/ml)	Resultado	Interpretación
1	1:10	A3	0.392	0.01125	0.1125	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	B3	0.04	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
2	1:10	C3	0.767	0.03671	0.3671	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	D3	0.034	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
3	1:10	E3	0.443	0.01499	0.1499	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	F3	0.104	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
4	1:10	G3	0.398	0.01171	0.1171	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	H3	0.083	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
5	1:10	A4	0.797	0.0387	0.387	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	B4	0.075	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
6	1:10	C4	1.07	0.05748	0.5748	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>

	1:200	D4	0.045	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
7	1:10	E4	0.939	0.04828	0.4828	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	F4	0.124	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
8	1:10	G4	0.506	0.01938	0.1938	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	H4	0.036	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
9	1:10	A5	0.345	0.007524	0.07524	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	B5	0.154	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
10	1:10	C5	0.496	0.0187	0.187	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	D5	0.059	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
11	1:10	E5	0.128	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para ETN</b>
	1:200	F5	0.036	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
12	1:10	G5	0.72	0.0336	0.336	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	H5	0.05	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
13	1:10	A6	0.492	0.01842	0.1842	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	B6	0.057	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-

14	1:10	C6	0.945	0.04869	0.4869	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	D6	0.19	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
15	1:10	E6	0.441	0.01485	0.1485	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	F6	0.038	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
16	1:10	G6	0.419	0.01326	0.1326	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	H6	0.1	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
17	1:10	A7	0.317	0.00505	0.0505	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	B7	0.118	<Co. Calibrador	<Co. Calibrador	-	-
18	1:10	C7	0.495	0.01863	0.1863	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	D7	0.094	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
19	1:10	E7	0.068	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para ETN</b>
	1:200	F7	0.062	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
20	1:10	G7	0.371	0.009634	0.09634	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para ETN</b>
	1:200	H7	0.057	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-

**Tabla 11.** Tabla con concentraciones de ETN en circulación de cada paciente.

**Verde:** Esta muestra fue procesada, pero no se tomó en cuenta para la comparación de resultados.

<b>Cantidad de ETN</b>	<b>Resultado</b>	<b>Interpretación</b>
< o igual a 0.035 µg/ml	Negativo	Negativo a ETN
>0.035 µg/ml	Positivo	Positivo a ETN

**CONSIDERACIONES:**

-Descartar cualquier concentración mayor o menor al valor de las concentraciones de los calibradores.

-Si son mayores a la concentración del Calibrador A, se considera como >40 µg/ml; si el valor de la dilución 1:10 es menor a la concentración del Calibrador F, se considera negativa.

**Tabla 12.** Valores de referencia del kit ETN

En base a los resultados arrojados por la dilución 1:10, de los 19 pacientes (100%), a 2 pacientes (10.52%) no se le detectaron cantidades considerables de etanercept en circulación (se encontraban fuera del “cut point”), por lo que la prueba resulta negativa para ellos; 17 pacientes (89.47%) presentaron concentraciones del biofármaco >0.035 µg/ml, por lo que, en el caso de ellos, la prueba es positiva.

En base a los resultados arrojados por la dilución 1:200, los 19 pacientes (100%) arrojaron resultados fuera de los valores de referencia.

<b>Muestra</b>	<b>Dilución</b>	<b>Pocillo</b>	<b>Abs</b>	<b>Co. Interpolada (UA/ml)</b>	<b>Co. Real (UA/ml)</b>	<b>Resultado</b>	<b>Interpretación</b>
1	1:2	A3	0.254	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	B3	0.154	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-

2	1:2	C3	0.146	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	D3	0.096	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
3	1:2	E3	0.125	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	F3	0.1	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
4	1:2	G3	0.152	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	H3	0.192	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
5	1:2	A4	0.108	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	B4	0.207	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
6	1:2	C4	0.158	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	D4	0.125	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
7	1:2	E4	0.302	71.08	142.2	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	F4	0.183	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-

8	1:2	G4	0.161	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	H4	0.207	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
9	1:2	A5	0.132	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	B5	0.168	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
10	1:2	C5	0.122	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	D5	0.071	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
11	1:2	E5	0.208	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	F5	0.17	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
12	1:2	G5	0.232	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	H5	0.064	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
13	1:2	A6	0.184	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	B6	0.049	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-

14	1:2	C6	0.12	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	D6	0.121	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
15	1:2	E6	0.101	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	F6	0.085	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
16	1:2	G6	0.335	76.61	153.2	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	H6	0.135	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
17	1:2	A7	0.186	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	B7	0.203	<Co. Calibrador	<Co. Calibrador	-	-
18	1:2	C7	0.127	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	D7	0.023	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-
19	1:2	E7	0.154	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	<b>Negativo</b>	<b>Negativo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	F7	0.047	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-

20	1:2	G7	0.312	72.75	145.5	<b>Positivo</b>	<b>Positivo para anticuerpos anti-ETN</b>
	1:10	H7	0.043	< Co. Calibrador	< Co. Calibrador	-	-

**Tabla 13.** Tabla con concentraciones de anticuerpos anti- ETN en circulación de cada paciente.

**Verde:** Esta muestra fue procesada, pero no se tomó en cuenta para la comparación de resultados.

<b>Cantidad de ETN</b>	<b>Resultado</b>	<b>Interpretación</b>
< o igual a 142 UA/mL	Negativo	Negativo a anticuerpos anti-ETN
>142 UA/mL	Positivo	Positivo a anticuerpos anti- ETN

**CONSIDERACIONES:**

-Descartar cualquier concentración mayor o menor al valor de las concentraciones de los calibradores.

-Si son mayores a la concentración del Calibrador A, se considera como >4500 UA/ml; si el valor de la dilución 1:10 es menor a la concentración del Calibrador F, se considera negativa.

**Tabla 14.** Valores de referencia del kit anti-ETN

En base a los resultados arrojados por la dilución 1:2, de los 19 pacientes (100%), a 17 pacientes (89.47%) no se le detectaron cantidades considerables de anticuerpos anti-ETN $\alpha$  en circulación (se encontraban fuera del “cut point”), por lo que la prueba resulta negativa para ellos; 2 pacientes (10.52%) presentaron concentraciones de anticuerpos anti-ETN $\alpha$  >142 UA/ml, por lo que en el caso de ellos, la prueba es positiva.

En base a los resultados arrojados por la dilución 1:10, los 19 pacientes (100%) arrojaron resultados fuera de los valores de referencia.

Posteriormente, se hizo una búsqueda de los expedientes de cada paciente en la base de datos del Centro Médico ISSEMYM para localizar los estudios de Biometría Hemática Completa y Perfil Reumático cercanos a la fecha de la toma de muestra. Al realizar la búsqueda, se detectó que una de ellas no tenía expediente activo, por lo que, de acuerdo con los criterios de eliminación, tuvimos que descartarla del estudio, quedando solo con 19 de ellas.

En total son 8 hombres (42.10%) y 11 mujeres (57.89%); el rango de edades de los 19 pacientes es amplio y en su mayoría no se repiten (a excepción de 2 edades), por lo que se han agrupado en 3 grupos: adulto joven, adulto maduro y adulto mayor. Los 19 pacientes se encuentran entre los 22-72 años, existiendo prevalencia en la etapa de adulto maduro, que comprende de los 41-60 años, con el 47.36%. La mayoría de mujeres están situadas en la etapa de adulto mayor (54.54%) y en mayor proporción, el sexo masculino está posicionado en las etapas de adulto joven y maduro (37.5%) (Tabla 11)

Etapa	$\bar{X}$	Rango	Moda	Cantidad por sexo	Porcentaje por etapa	Porcentaje por sexo
Adulto joven (19-40 años)	32.85	18	Todos con edades diferentes	F:4	36.84%	36.36%
				M:3		37.5%
Adulto Maduro (41-60 años)	49.55	17	45 y 49	F:6	47.36%	54.54%
				M:3		37.5%
Adulto Mayor (más de 61 años)	65.66	11	Todos con edades diferentes	F:1	15.78%	9.09%
				M:2		25%

**Tabla 15.** Edades de los pacientes divididos en 3 grupos: Adulto joven, maduro y mayor con sus respectivas medias aritméticas, rango, moda y cantidad de individuos de acuerdo a su sexo y etapa. **F:** Femenino. **M:** Masculino.

Se recabaron los resultados de la Biometría Hemática Completa y Perfil reumático, donde este último implicaba: Velocidad de Sedimentación Globular (VSG), Antiestreptolisinas, Proteína C reactiva y Factor reumático. Los 19 pacientes se llevaron a cabo la Biometría Hemática Completa (100%), mientras que solo 14 se realizaron el estudio de Proteína C reactiva (73.68%), 8 el de Antiestreptolisinas (42.10%), 8 el Factor reumatoide (42.10%) y 11 de Velocidad de Sedimentación Globular (57.89%). Dicha información fue recabada en una tabla, donde, con ayuda de colores, se señalaron las distintas alteraciones en cada uno de los valores, dependiendo si estos estaban encima, normal o por debajo de las cifras de referencia. Se obtuvieron las medias aritméticas y desviaciones estándares de cada uno para determinar la prevalencia de cada valor y qué tan dispersos se encontraban, En el caso del estudio para Velocidad de Sedimentación Globular se tomaron distintos valores de referencia, ya que se ocupó la técnica modificada de Westergreen (Tabla 12)

## RESULTADOS SOCIODEMOGRÁFICOS Y PRUEBAS CLÍNICAS DE LABORATORIO

Paciente/Sexo /Edad (años)	BIOMETRÍA HEMÁTICA COMPLETA / UNIDADES															PERFIL REUMÁTICO / UNIDADES			
	Leuc 10 <sup>3</sup> μL	Neut %	Linfo %	Mono %	Eosi %	Bas %	Erit 10 <sup>6</sup> uL	Hemo g/dL	Hema %	VCM fL	HCM pg	CMHC g/dL	RDW fl	Plaq 10 <sup>3</sup> μL	MPV fL	PCR mg/L	Anti UI/mL	FR UI/mL	VSG mm/hr
1/F/32	4.75	49.7	33.1	12.6	2.9	1.7	5.12	12.6	38.9	76	24.6	32.4	20.1	374	10.8	0.87	62.8	166.87	14
2/F/36	5.87	71	18.7	9.5	0.3	0.5	4.37	10.8	33.4	76.4	24.7	32.3	21.4	351	8.9	6.87	NO	NO	NO
3/F/60	4.44	47.9	38.3	9.9	3.4	0.5	4.11	13.1	38.7	94.2	31.9	33.9	13.8	314	10.4	NO	NO	NO	NO
4/M/43	7.74	52.6	40.6	5.8	0.5	0.5	5.39	16.9	49.2	91.3	31.4	34.3	12.3	283	10	0.63	35.1	12.06	0
5/F/46	8.64	57.3	30.6	10.9	0.9	0.3	5	13.8	44.8	89.6	27.6	30.8	14.4	314	10.3	NO	NO	NO	NO
6/F/49	5.60	59.8	25.9	6.8	3.4	0.4	4.95	14.5	43.7	88.3	29.3	33.2	12.2	198	10	7.01	NO	NO	NO
7/F/28	9.16	59.5	34.1	5.5	0.7	0.2	4.64	11.7	37.7	81.3	25.2	31	18.3	442	9.2	48.16	NO	NO	58
8/F/49	11.44	38.7	54.4	4.7	1.9	0.3	5.37	16	45.8	85.3	29.8	34.9	14.7	284	10.5	2.77	60	6.2	NO
9/F/40	4.07	42.2	36.4	15.5	5.9	0	5.43	13.8	44.4	81.8	25.4	31.1	14.7	202	0	10.4	NO	NO	NO
10/M/38	7.20	48.4	36.5	10.8	3.5	0.8	4.74	14.2	41.7	88	30	34.1	13.3	241	8.9	NO	NO	NO	NO
11/M/22	4.86	44.7	42.8	8.6	3.5	0.4	5.52	16.8	46	83.3	30.4	36.5	13.2	218	12.6	0.26	19	2.69	3
12/M/45	3.74	55.4	25.9	17.6	0.8	0.3	4.58	13.2	39.4	86	28.8	33.5	13.2	128	12.9	NO	NO	NO	NO
13/M/61	10.3	71.2	19.1	7.4	1.8	0.5	5.42	16.1	46.6	86	29.7	34.5	15	250	11.2	4.64	NO	NO	22
14/F/54	5.3	45.7	46	6.2	1.9	0.2	4.68	14.3	42	89.7	30.6	34	13.1	168	12	2.29	60	0	29
15/F/45	6.09	50.2	34.2	8.9	5.4	1.3	5.37	17.6	48.8	90.9	32.8	36.1	14.8	179	12	0.49	248	8.78	1
16/F/64	6.29	59.7	34.7	4.3	0.5	0.8	4.54	12.7	40.1	88.3	28	31.7	15.5	399	10.4	8.79	NO	NO	74
17/M/72	7.57	49.6	35.1	9	5.4	0.9	4.71	13.6	39.6	84.1	28.9	34.3	13.9	161	11.1	9.91	10	0	40
18/M/55	7.96	53.3	36.1	8.5	1.6	0.5	4.75	15.3	47.1	99.2	32.2	32.5	14.2	250	10.5	NO	NO	NO	29
19M/34	5.49	51.3	37.3	9.70	1.5	0.2	5.72	17.1	50.1	87.6	29.9	34.1	13	262	10.1	1.05	196.5	7.27	1

<b>X</b>	6.66	53.06	34.58	9.06	2.41	0.54	4.96	14.42	43.05	86.7	29.01	33.43	14.79	264.1	10.0 9	7.43	86.42	25.48	24.63
<b>SD</b>	2.08	8.38	8.36	3.37	1.72	0.40	0.43	1.87	4.38	5.48	2.45	1.57	2.44	83.39	2.61	11.83	81.54	53.58	23.61
<b>Valores de referencia</b>	4.10- 8.80	41.4- 71.3	22.8- 46.2	3.2- 10	0- 4.6	0.3- 0.8	4.39- 5.99	13.7- 17	40.1- 50.8	77.6- 98.3	25.8- 33.5	31.3- 36.1	11.4- 14.7	183- 390	7.2- 10.8	<5	<200	0-14	0-15 MW: <10.6 (4/M) <20.2 (16/F) <11 (1/F) <7.8 (19/M)
<b>Estudios realizados</b>	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	14	8	8	11

**Tabla 16.** Tabla con resultados de Biometría Hemática y Perfil reumático de los pacientes.

**F:** Femenino. **M:** Masculino. **NO:** Sin dato (el paciente no se llevó a cabo ese examen). **Leuc:** Leucocitos. **Neut:** Neutrófilos. **Linfo:** Linfocitos. **Mono:** Monocitos. **Eosi:** Eosinófilos. **Bas:** Basófilos. **Erit:** Eritrocitos. **Hemo:** Hemoglobina. **Hema:** Hematocrito. **VCM:** Volumen Corpuscular Medio. **HCM:** Hemoglobina Corpuscular Media. **CMHC:** Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular. **RDW:** Amplitud de la Distribución Eritrocitaria. **Plaq:** Plaquetas. **MPV:** Volumen Plaquetario Medio. **PCR:** Proteína C Reactiva. **Anti:** Antiestreptolisinas. **FR:** Factor Reumatoide. **VSG:** Velocidad De Sedimentación Globular. **MW:** Método de Westergreen. **X:** Media aritmética. **SD:** Desviación estándar.

Valores altos: Rojo.

Valores Normales: Verde.

Valores bajos: Morado

Se sabe que la artritis reumatoide es una enfermedad multifactorial, pero que la edad y el sexo son factores determinantes en la incidencia de la misma, por lo que se realizaron dos tablas donde, en una se señalan los valores de cada examen divididos por sexo (Ver Tabla 13), y en la siguiente, se agruparon los resultados en base a la edad (Tabla 14)

SEXO	BIOMETRÍA HEMÁTICA COMPLETA (%)															PERFIL REUMÁTICO (%)			
	Leuc	Neut	Linfo	Mono	Eosi	Bas	Erit	Hemo	Hema	VCM	HCM	CMHC	RDW	Plaq	MPV	PCR	Anti	FR	VSG
<b>FEMENINO</b>																			
11=100% (BH)	18.18	0	9.09	27.27	18.18	9.09	0	9.09	0	0	0	0	45.45	18.18	9.09	55.55	25	25	80
9=100% (PCR)	72.72	90.9	81.81	72.72	81.81	63.63	81.81	45.45	63.63	81.81	63.63	72.72	54.54	63.63	72.72	44.44	75	75	20
4=100% (Anti)																			
4=100% (FR)	9.09	9.09	9.09	0	0	27.27	18.18	45.45	36.36	18.18	36.36	27.27	0	18.18	18.18	0	0	0	0
5= 100% (VSG)																			
<b>MASCULINO</b>																			
8=100% (BH)	12.5	0	0	25	12.5	12.5	0	12.5	0	12.5	0	12.5	12.5	0	50	20	0	0	50
5=100% (PCR)																			
4=100% (Anti)	75	100	87.5	75	87.5	75	100	62.5	75	87.5	100	87.5	87.5	87.5	50	80	100	100	50

<b>4=100% (FR)</b>																				
<b>6= 100% (VSG)</b>	12.5	0	12.5	0	0	12.5	0	25	25	0	0	0	0	12.5	0	0	0	0	0	0

**Tabla 17.** Tabla con porcentajes de resultados de Biometría Hemática y Perfil reumático de los pacientes en base a la división por género.

**Leuc:** Leucocitos. **Neut:** Neutrófilos. **Linfo:** Linfocitos. **Mono:** Monocitos. **Eosi:** Eosinófilos. **Bas:** Basófilos. **Erit:** Eritrocitos. **Hemo:** Hemoglobina. **Hema:** Hematocrito. **VCM:** Volumen Corpuscular Medio. **HCM:** Hemoglobina Corpuscular Media. **CMHC:** Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular. **RDW:** Amplitud de la Distribución Eritrocitaria. **Plaq:** Plaquetas. **MPV:** Volumen Plaquetario Medio. **PCR:** Proteína C Reactiva. **Anti:** Antiestreptolisinas. **FR:** Factor Reumatoide. **VSG:** Velocidad De Sedimentación Globular.

Valores altos: Rojo.

Valores Normales: Verde.

Valores bajos: Morado

EDAD	BIOMETRÍA HEMÁTICA COMPLETA (%)															PERFIL REUMÁTICO (%)			
	Leuc	Neut	Linfo	Mono	Eosi	Bas	Erit	Hemo	Hema	VCM	HCM	CMHC	RDW	Plaq	MPV	PCR	Anti	FR	VSG
<b>Adulto Joven (19-40 años)</b> <b>7=100% (BH)</b>	14.28	0	0	42.85	0	14.28	0	14.28	0	0	0	14.28	42.85	14.28	28.57	40	0	33.3	50
<b>5=100% (PCR)</b>	71.42	100	85.71	57.14	100	57.14	85.71	28.57	42.85	71.42	57.14	71.42	57.14	85.71	71.42	60	100	66.6	50

<b>3=100%</b> <b>(Anti y FR)</b>	14.28	0	14.28	0	0	28.57	14.28	57.14	57.14	28.57	42.85	14.28	0	0	0	0	0	0	0
<b>4=100%</b> <b>(VSG)</b>																			
<b>Adulto</b> <b>Maduro (41-60 años)</b>	11.11	0	11.1	22.2	11.1	0	0	11.1	0	11.1	0	0	11.1	0	33.3	20	25	0	50
<b>9=100%</b> <b>(BH)</b>	77.7	88.8	88.8	77.7	88.8	88.8	88.8	66.6	77.7	88.8	100	88.8	88.8	77.7	66.6	80	75	100	50
<b>5=100%</b> <b>(PCR)</b>																			
<b>4=100%</b> <b>(Ant, FR y VSG)</b>	11.11	11.1	0	0	0	11.1	11.1	22.2	22.2	0	0	11.1	0	22.2	0	0	0	0	0
<b>Adulto</b> <b>Mayor (más de 61 años)</b>	33.3	0	0	0	33.3	33.3	0	0	0	33.3	0	0	33.3	0	66.6	50	0	0	100
<b>3=100%</b> <b>(BH y VSG)</b>	66.6	100	66.6	100	66.6	66.6	100	66.6	66.6	66.6	100	100	66.6	66.6	33.3	50	100	100	0
<b>2=100%</b> <b>(PCR)</b>																			
<b>1=100%</b> <b>(Anti y FR)</b>	0	0	33.3	0	0	0	0	33.3	33.3	0	0	0	0	33.3	0	0	0	0	0

**Tabla 18.** Tabla con porcentajes de resultados de Biometría Hemática y Perfil reumático de los pacientes en base a la división por edad.

**Leuc:** Leucocitos. **Neut:** Neutrófilos. **Linfo:** Linfocitos. **Mono:** Monocitos. **Eosi:** Eosinófilos. **Bas:** Basófilos. **Erit:** Eritrocitos. **Hemo:** Hemoglobina. **Hema:** Hematocrito. **VCM:** Volumen Corpuscular Medio. **HCM:** Hemoglobina Corpuscular Media. **CMHC:** Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular. **RDW:** Amplitud de la Distribución Eritrocitaria. **Plaq:** Plaquetas. **MPV:** Volumen Plaquetario Medio. **PCR:** Proteína C Reactiva. **Anti:** Antiestreptolisinas. **FR:** Factor Reumatoide. **VSG:** Velocidad De Sedimentación Globular.

Valores altos: Rojo.

Valores Normales: Verde.

Valores bajos: Morado

## RESULTADOS SOCIODEMOGRÁFICOS Y PRUEBAS CLÍNICAS DE LABORATORIO

Paciente/ Sexo /Edad (años)	BIOMETRIA HEMATICA COMPLETA / UNIDADES															PERFIL REUMATICO / UNIDADES			
	Leuc. 10 <sup>9</sup> u/L	Neut. %	Linfo. %	Mono. %	Eosf. %	Bas. %	Erit. 10 <sup>12</sup> u/L	Hemo g/dL	Hemac. %	VCM fL	HCM pg	CMHC g/dL	RDW %	Plaq. 10 <sup>9</sup> u/L	MPV fL	PCR mg/L	Anti UVA/L	FR UVA/L	VSG mm/hr
1/F/32	4.75	49.7	33.1	12.6	2.9	1.7	5.12	12.6	38.9	76	24.6	32.4	20.1	374	10.8	0.87	62.8	166.87	14
2/F/38	5.87	71	18.7	9.5	0.3	0.5	4.37	10.8	33.4	76.4	24.7	32.3	21.4	351	8.9	6.87	NO	NO	NO
3/F/60	4.44	47.9	38.3	9.9	3.4	0.5	4.11	13.1	38.7	94.2	31.9	33.9	13.8	314	10.4	NO	NO	NO	NO
4/M/43	7.74	52.6	40.6	5.8	0.5	0.5	5.39	16.9	49.2	91.3	31.4	34.3	12.3	283	10	0.63	35.1	12.06	0
5/F/46	8.64	57.3	30.6	10.9	0.9	0.3	5	13.8	44.8	89.6	27.6	30.8	14.4	314	10.3	NO	NO	NO	NO
6/F/49	5.80	59.8	25.9	6.6	3.4	0.4	4.95	14.5	43.7	88.3	29.3	33.2	12.2	196	10	7.01	NO	NO	NO
7/F/26	9.16	59.5	34.1	5.5	0.7	0.2	4.64	11.7	37.7	81.3	25.2	31	18.3	442	9.2	48.16	NO	NO	58
8/F/49	11.44	38.7	54.4	4.7	1.9	0.3	5.37	16	45.8	85.3	29.8	34.9	14.7	264	10.5	2.77	60	6.2	NO
9/F/40	4.07	42.2	36.4	15.5	5.9	0	5.43	13.8	44.4	81.8	25.4	31.1	14.7	202	0	10.4	NO	NO	NO
10/M/38	7.20	48.4	36.5	10.8	3.5	0.8	4.74	14.2	41.7	86	30	34.1	13.3	241	8.9	NO	NO	NO	NO
11/M/22	4.86	44.7	42.8	8.6	3.5	0.4	5.52	16.8	46	83.3	30.4	36.5	13.2	218	12.6	0.28	19	2.69	3
12/M/45	3.74	55.4	25.9	17.6	0.8	0.3	4.58	13.2	39.4	86	28.8	33.5	13.2	128	12.9	NO	NO	NO	NO
13/M/61	10.3	71.2	19.1	7.4	1.8	0.5	5.42	16.1	46.6	86	29.7	34.5	15	250	11.2	4.64	NO	NO	22
14/F/54	5.3	45.7	46	6.2	1.9	0.2	4.68	14.3	42	89.7	30.6	34	13.1	188	12	2.29	60	0	29
15/F/45	6.09	50.2	34.2	8.9	5.4	1.3	5.37	17.6	48.8	90.9	32.8	36.1	14.8	179	12	0.49	248	8.78	1
16/F/54	6.29	59.7	34.7	4.3	0.5	0.8	4.54	12.7	40.1	88.3	26	31.7	15.5	399	10.4	8.79	NO	NO	74
17/M/72	7.57	49.6	35.1	9	5.4	0.9	4.71	13.6	39.6	84.1	28.9	34.3	13.9	161	11.1	9.91	10	0	40
18/M/55	7.96	53.3	36.1	8.5	1.6	0.5	4.75	15.3	47.1	99.2	32.2	32.5	14.2	250	10.5	NO	NO	NO	29
19/M/34	5.49	51.3	37.3	9.70	1.5	0.2	5.72	17.1	50.1	87.6	29.9	34.1	13	262	10.1	1.05	196.5	7.27	1

<b>X</b>	6.66	53.06	34.58	9.06	2.41	0.54	4.96	14.42	43.05	86.7	29.01	33.43	14.79	284.1	10.09	7.43	66.42	25.48	24.63
<b>SD</b>	2.08	8.38	8.36	3.37	1.72	0.40	0.43	1.87	4.38	5.48	2.45	1.57	2.44	83.39	2.61	11.83	81.54	53.58	23.61
<b>Valores de referencia</b>	4.10-8.80	41.4-71.3	22.8-46.2	3.2-10	0-4.6	0.3-0.8	4.39-5.99	13.7-17	40.1-50.8	77.6-98.3	25.8-33.5	31.3-36.1	11.4-14.7	183-390	7.2-10.8	<5	<200	0-14	0-15 MW: <10.6 (4M) <20.2 (16F) <11 (1F) <7.8 (19M)
<b>Estudios realizados</b>	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	19	14	8	8	11

**Tabla 16.** Tabla con resultados de Biometría Hemática y Perfil reumático de los pacientes.

F: Femenino. M: Masculino. NO: Sin dato (el paciente no se llevó a cabo ese examen). Leuc: Leucocitos. Neut: Neutrófilos. Linfo: Linfocitos. Mono: Monocitos. Eosf: Eosinófilos. Bas: Basófilos. Erit: Eritrocitos. Hemo: Hemoglobina. Hemac: Hematocrito. VCM: Volumen Corpuscular Medio. HCM: Hemoglobina Corpuscular Media. CMHC: Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular. RDW: Amplitud de la Distribución Eritrocitaria. Pla: Plaquetas. MPV: Volumen Plaquetario Medio. PCR: Proteína C Reactiva. Anti: Antiestreptolisina. FR: Factor Reumatoide. VSG: Velocidad De Sedimentación Globular. MW: Método de Westergaard. X: Media aritmética. SD: Desviación estándar.

Valores altos: Rojo.  
Valores Normales: Verde.  
Valores bajos: Morado

Se sabe que la artritis reumatoide es una enfermedad multifactorial, pero que la edad y el sexo son factores determinantes en la incidencia de la misma, por lo que se realizaron dos tablas donde, en una se señalan los valores de cada examen divididos por sexo (Ver Tabla 13), y en la siguiente, se agruparon los resultados en base a la edad (Tabla 14)

SEXO	BIOMETRÍA HEMÁTICA COMPLETA (%)															PERFIL REUMÁTICO (%)			
	Leuc.	Neut.	Linfo.	Mono.	Eosf.	Bas.	Erit.	Hemo.	Hemat.	VCM	HCM	CMHC	RDW	Pla.	MPV	PCR	Anti	FR	VSG
<b>FEMENINO</b>																			
11=100% (BH)	18.18	0	9.09	27.27	18.18	9.09	0	9.09	0	0	0	0	45.45	18.18	9.09	55.55	25	25	80
8=100% (PCR)	72.72	90.9	81.81	72.72	81.81	63.63	81.81	45.45	63.63	81.81	63.63	72.72	54.54	63.63	72.72	44.44	75	75	20
4=100% (Anti)																			
4=100% (FR)	9.09	9.09	9.09	0	0	27.27	18.18	45.45	36.36	18.18	36.36	27.27	0	18.18	18.18	0	0	0	0
5= 100% (VSG)																			
<b>MASCULINO</b>																			
8=100% (BH)	12.5	0	0	25	12.5	12.5	0	12.5	0	12.5	0	12.5	12.5	0	50	20	0	0	50
5=100% (PCR)																			
4=100% (Anti)	75	100	87.5	75	87.5	75	100	62.5	75	87.5	100	87.5	87.5	87.5	50	80	100	100	50

4=100% (FR)																			
6= 100% (VSG)	12.5	0	12.5	0	0	12.5	0	25	25	0	0	0	0	12.5	0	0	0	0	0

Tabla 17. Tabla con porcentajes de resultados de Biometría Hemática y Perfil reumático de los pacientes en base a la división por género.

Leuc: Leucocitos. Neut: Neutrófilos. Linfo: Linfocitos. Mono: Monocitos. Eosf: Eosinófilos. Bas: Basófilos. Erit: Eritrocitos. Hemo: Hemoglobina. Hemat: Hematocrito. VCM: Volumen Corpuscular Medio. HCM: Hemoglobina Corpuscular Media. CMHC: Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular. RDW: Amplitud de la Distribución Eritrocitaria. Pla: Plaquetas. MPV: Volumen Plaquetario Medio. PCR: Proteína C Reactiva. Anti: Antiestreptolisinas. FR: Factor Reumatoide. VSG: Velocidad De Sedimentación Globular.

Valores altos: Rojo.  
Valores Normales: Verde.  
Valores bajos: Morado

EDAD	BIOMETRÍA HEMÁTICA COMPLETA (%)															PERFIL REUMÁTICO (%)			
	Leuc.	Neut.	Linfo.	Mono.	Eosf.	Bas.	Erit.	Hemo.	Hemat.	VCM	HCM	CMHC	RDW	Plaq.	MPV	PCR	Anti	FR	VSG
Adulto Joven (18-40 años) 7=100% (BH)	14.28	0	0	42.85	0	14.28	0	14.28	0	0	0	14.28	42.85	14.28	28.57	40	0	33.3	50
5=100% (PCR)	71.42	100	85.71	57.14	100	57.14	85.71	28.57	42.85	71.42	57.14	71.42	57.14	85.71	71.42	60	100	66.6	50
3=100% (Anti y FR)	14.28	0	14.28	0	0	28.57	14.28	57.14	57.14	28.57	42.85	14.28	0	0	0	0	0	0	0
4=100% (VSG)	14.28	0	14.28	0	0	28.57	14.28	57.14	57.14	28.57	42.85	14.28	0	0	0	0	0	0	0
Adulto Maduro (41-60 años) 9=100% (BH)	11.11	0	11.1	22.2	11.1	0	0	11.1	0	11.1	0	0	11.1	0	33.3	20	25	0	50
5=100% (PCR)	77.7	88.8	88.8	77.7	88.8	88.8	88.8	66.6	77.7	88.8	100	88.8	88.8	77.7	66.6	80	75	100	50
4=100% (Anti, FR y VSG)	11.11	11.1	0	0	0	11.1	11.1	22.2	22.2	0	0	11.1	0	22.2	0	0	0	0	0
Adulto Mayor (más de 61 años) 3=100% (BH y VSG)	33.3	0	0	0	33.3	33.3	0	0	0	33.3	0	0	33.3	0	66.6	50	0	0	100
2=100% (PCR)	66.6	100	66.6	100	66.6	66.6	100	66.6	66.6	66.6	100	100	66.6	66.6	33.3	50	100	100	0
1=100% (Anti y FR)	0	0	33.3	0	0	0	0	33.3	33.3	0	0	0	0	33.3	0	0	0	0	0

**Tabla 18.** Tabla con porcentajes de resultados de Biometría Hemática y Perfil reumático de los pacientes en base a la división por edad.

**Leuc.:** Leucocitos. **Neut.:** Neutrófilos. **Linfo.:** Linfocitos. **Mono.:** Monocitos. **Eosf.:** Eosinófilos. **Bas.:** Basófilos. **Erit.:** Eritrocitos. **Hemo.:** Hemoglobina. **Hemat.:** Hematocrito. **VCM:** Volumen Corpuscular Medio. **HCM:** Hemoglobina Corpuscular Media. **CMHC:** Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular. **RDW:** Amplitud de la Distribución Eritrocitaria. **Plaq.:** Plaquetas. **MPV:** Volumen Plaquetario Medio. **PCR:** Proteína C Reactiva. **Anti:** Antiestreptolisinas. **FR:** Factor Reumatoide. **VSG:** Velocidad De Sedimentación Globular.

Valores altos: Rojo.

Valores Normales: Verde.

Valores bajos: Morado

# **CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

Anteriormente, se han hecho investigaciones para la determinación de anticuerpos en kits no específicos para la molécula (en este caso, para el fármaco), por lo que no se puede saber con exactitud si los anticuerpos presentes en esas muestras se hayan originado por alguna causa farmacológica, de igual forma, es importante llevar a cabo este tipo de trabajos en técnicas de inmunoensayo que sean hechas específicamente para lo que se necesita, ya que, en otras ocasiones, se han trabajado con kits que pueden llegar a leer la cantidad de fármaco en circulación como anticuerpo, dando falsos positivos para la prueba (Moots, et al, 2017), por ello, el suero de cada muestra fue procesada en kits específicos (ETN y anti-ETN).

Se sabe que esta enfermedad esta propensa a aparecer a cualquier edad, siendo predominante de los 30-50 años y en una proporción 1:3, afectando mayormente al sexo femenino (Molina, 2007). En total se trabajó con la información de 19 pacientes, de los cuales 8 son hombres (42.10%) y 11 mujeres (57.89%); estos se encuentran distribuidos en 3 etapas: en Adulto joven se cuenta con 4 mujeres y 3 hombres; en la etapa de Adulto maduro se trabajó con la información de 6 mujeres y 3 hombres y en la fase de Adulto mayor se encuentran 2 hombres y 1 mujer. De acuerdo a lo anterior, encontramos que la mayoría de pacientes se encuentran en la etapa de Adulto Maduro (41-60 años) con un 47.36% del total de los individuos. De las 11 pacientes, la mayoría (54.54%) se encuentran en la fase de Adulto maduro; la mayor parte de los pacientes de la parte masculina se encuentran en dos etapas: Adulto joven (19-40 años) y Adulto maduro (41-60 años), ambos con un 36.36% del total de la población por sexo.

Se obtuvieron los expedientes de cada paciente con los siguientes estudios: Biometría Hemática Completa y Perfil Reumático, donde este último abarca: Proteína C Reactiva, Antiestreptolisinas, Factor Reumatoide y Velocidad de Sedimentación Globular (VSG).

El Perfil Reumático, junto a otras pruebas físicas y de imagenología son indispensables para el diagnóstico de una posible artropatía; la artritis reumatoide puede confundirse con algunos otros padecimientos debido a su similitud en síntomas, como el Lupus Eritematoso Sistémico, el Síndrome de Sjögren y

Escleroderma (Molina, 2007), por lo que su diagnóstico debe ser integral. En este trabajo no requerimos dichos parámetros para un diagnóstico, sino para conocer el progreso de la enfermedad y efectividad del fármaco. Se consideran marcadores inespecíficos, pero con el criterio médico y la experiencia, se pueden considerar como buenos marcadores de seguimiento para el padecimiento (Proteína C reactiva es una medida de inflamación, Velocidad de Sedimentación Globular refleja la severidad de la enfermedad, en conjunto son un indicativo de daño radiológico, Factor Reumatoide es un indicativo de mal pronóstico y las Antiestreptolisinas señalan infección por Estreptococo betahemolítico del grupo A) (Molina, 2007, GPC IMSS-195-08, Fernández et al, 2012)

La Biometría Hemática Completa es un estudio complementario al anterior, ya que se sabe que una persona con artritis reumatoide llega a presentar algún tipo de anemia (crónica, normocítica normocrómica o ferropénicas debido a la pérdida de sangre por uso de fármacos, como AINES), recuento anormal de plaquetas o aumento de glóbulos blancos debido a la inflamación, uso de corticoides o infecciones, a las que son más susceptibles (Fernández et al, 2012)

Tomando en cuenta los resultados del kit ETN, 2 personas obtuvieron resultados negativos, indicando que no se encontró Etanercept en circulación; ambos son del sexo masculino, uno de ellos tiene 22 años de edad, y de los dos estudios que se le realizaron (Biometría Hemática Completa y Perfil Reumático) solo presentó alteración en la Biometría Hemática, específicamente en Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular y Volumen Plaquetario Medio, donde ambos tuvieron alteración por encima de los valores de referencia; Los valores proporcionados de CMHC no pueden ser indicativo de algún padecimiento anémico, ya que la anemia es un síndrome que implica no solo este valor, si no también lo resultante de la Hemoglobina, VCM y HCM, que en este caso, se encuentran normales (Aixalá, M et al). Para el MPV, a pesar de que el rango se encuentra elevado, todavía es considerado un parámetro de un individuo sano: investigaciones dicen que un valor de hasta 12.9 fL es aceptado como normal, incluso se sabe que, al existir una estabilización en la actividad de las plaquetas, en el caso de enfermedades

autoinmunes proinflamatorias, este valor tiende a subir con el paso del tiempo (Carrillo, R. et al, 2013). De manera simultánea se tienen los resultados de la generación anticuerpos, donde, para este paciente, los valores fueron negativos, indicando inexistencia de los mismos.

El otro paciente que presentó resultados negativos en el kit ETN es también del sexo masculino, con edad de 34 años. De igual forma, se le realizaron los 2 estudios de laboratorio anteriormente mencionados (Biometría Hemática Completa y Perfil Reumático), en donde solo presentó alteración en 2 de ellos: Basófilos, encontrándose debajo de los valores normales y Hemoglobina, quien tenía su valor por encima de los parámetros de referencia. Se sabe que los leucocitos se modifican tras la aparición de una enfermedad autoinmune proinflamatoria, lo cual es signo de esa inflamación, pero una de las células que mayormente se encuentran en este proceso son los linfocitos, por lo que no se puede asumir que este valor indique reactividad de la enfermedad (Fernández et al, 2012), de igual forma para los valores de Hemoglobina, este solo se encuentra 0.1 por encima del valor de referencia, por lo que pensar en una probable anemia hemolítica sería erróneo (Aixalá, M et al) Los resultados arrojados en el kit anti-ETN demuestran de igual forma, un valor negativo, descartando la presencia de anticuerpos anti-ETN $\alpha$ .

El kit anti-ETN arrojó que solo 2 personas tuvieron presencia de anticuerpos anti-TNF $\alpha$ , ambas personas son del sexo femenino. Una de ellas tiene 28 años, donde, de los 2 estudios realizados (Biometría Hemática Completa y Perfil Reumático), ambos presentaron alteraciones: En la Biometría Hemática tuvo alteración en 8 de los 15 estudios: Leucocitos, Amplitud de Distribución Eritrocitaria y Plaquetas con valores por encima del valor de referencia y Basófilos, Hemoglobina, Hematocrito, Hemoglobina Corpuscular Media y Concentración Media de Hemoglobina Corpuscular por debajo del mismo. Las alteraciones a nivel de Eritrocitos, nos habla de un cambio en la morfología de los mismos, y la disminución en los valores de Hemoglobina e Índices eritrocitarios, son señal de un probable inicio de anemia microcítica hipocrómica. Los cambios en los valores leucocitarios se encuentran ligeramente elevados; se podrá descartar una posible reactividad de la enfermedad,

pero, al ver sus estudios de Perfil Reumático, los valores resultantes de Proteína C Reactiva y VSG, me indican que el padecimiento de nuevo tiene actividad (Fernández et al, 2012, Aixalá, M et al)

En el Perfil Reumático solo se llevaron a cabo 2 estudios (Proteína C Reactiva), resultando alto y en VSG el valor también se presentó alterado, indicando en conjunto un mal pronóstico de la enfermedad (Progreso y gravedad mayor en la inflamación) (Fernández et al, 2012, Molina 2007) En el kit ETN, su resultado fue positivo, indicando presencia del fármaco en circulación.

La otra paciente tiene 64 años; a ella también se le realizaron los 2 estudios (Biometría Hemática Completa y Perfil Reumático), donde los 2 tuvieron alguna alteración: En la Biometría Hemática presentó valores altos en las Plaquetas y Amplitud de Distribución Eritrocitaria y baja Hemoglobina. Con los resultados a nivel de línea roja, no podemos considerar algún tipo de padecimiento, ya que los valores obtenidos no son significativos para algún tipo de enfermedad, de igual forma con las plaquetas (Fernández et al, 2012, Molina 2007). La situación a considerar se da en el Perfil Reumático, ya que solo se realizó Proteína C reactiva, resultando valores altos, y lo mismo en VSG, señalando un progreso en la inflamación (Fernández et al, 2012, Molina 2007), dando así un pronóstico grave para esta paciente. En el kit ETN, esta misma muestra obtuvo un resultado positivo, indicando presencia de Etanercept en el cuerpo.

De acuerdo con lo obtenido en las lecturas de ambos kits, encontramos que, en el kit ETN, dos personas resultaron negativos para la prueba (10.52%), señalando una existencia del fármaco por debajo de los valores normales y en el kit anti-ETN, 3 personas resultaron positivas para detección de anticuerpos anti-ETN $\alpha$ , aunque recordemos que solo se toman en cuenta a dos de ellas (10.52%)

Al comparar los resultados del kit ETN y anti-ETN, nos percatamos de que los pacientes que presentaron menor cantidad de fármaco en las muestras tampoco presentan resultados positivos para la generación de anticuerpos, por lo que, la baja

cantidad de etanercept en circulación, se deduce, puede deberse a una causa externa, como la fecha en la que se dosificó el antirreumático.

Tomemos en cuenta que aquellos fármacos de naturaleza biológica, y que tengan una composición proteica, tienden a ser inmunogénicos de forma natural, pero distintas investigaciones han dado a conocer que etanercept es uno de los fármacos que generan en menor cantidad inmunogenicidad con una incidencia del 0-18% (la prueba de efecto secundario mayormente dada en los pacientes con este tratamiento es en la zona de punción con una incidencia del 38% (Benucci et al, 2014)) del total de pacientes en estudio, incluso muchos señalan que son de naturaleza no neutralizante y la mayoría de pacientes que lo consumen se encuentran en remisión (53.8%) (Moots et al, 2017), por lo que no intervienen en la actividad del fármaco, así que es imposible comparar la cantidad de fármaco en los individuos con la generación de anticuerpos, porque no se genera nada, totalmente contrario a lo que sucede con medicamentos como adalimumab o infliximab, (fármacos de naturaleza monoclonal) ya que ellos poseen la capacidad de generar anticuerpos que inhiben la actividad del fármaco y por consiguiente, disminuyen los valores del mismo en circulación (Moots, et al, 2017),

Lo obtenido en este ensayo no rebasa los valores establecidos, ya que aquí encontramos que un 10.52% de la población en estudio, presenta inmunogenicidad hacia etanercpet, aunque, comparando con lo obtenido en el kit ETN, nos percatamos de que la cantidad del fármaco se mantuvo, por lo que podemos deducir que se trata de anticuerpos no neutralizantes (Tornera, 2002, Moots, et al, 2017).

En el análisis por estudio, dentro de la Biometría Hemática, todos los valores se presentaron alterados en algún paciente; aquellos que tuvieron los mayores cambios fueron:

1..- Hemoglobina, con un 47.36% del total de los pacientes; dos de sus valores resultaron altos (22.22%) y siete por debajo de los valores de referencia (77.77%). De los 9 pacientes, 3 fueron hombres y 6 mujeres.

2.- Volumen Plaquetario Medio (MPV), con un 36.84% del total de los pacientes; solo 1 valor se encontró por debajo de los valores de referencia (14.28%) y el resto estaba elevado (85.71%). De los 7 pacientes que lo presentaron, 3 fueron mujeres y 4 hombres.

A nivel de línea roja sanguínea, los padecimientos que mayormente se dan, son alteraciones para probable cuadro anémico; en este caso, encontramos a 6 pacientes con dicho padecimiento (31.47%): 3 con probable anemia microcítica hipocrómica y 3 con anemia de carácter crónico; de los 6 individuos, 4 son mujeres y 2 hombres, donde estos 2 últimos presentan el cuadro anémico de carácter crónico, y de las mujeres, 3 padecen anemia microcítica hipocrómica y una, anemia crónica.

En el caso de las células de línea blanca, cuando existe alguna reactivación de la enfermedad, se puede ver alteraciones como leucocitosis; 3 de los 19 pacientes presentaron este padecimiento (15.78%), donde solo a 2 de ellos los podemos considerar como una probable inflamación y gravedad del estado del paciente. 2 de ellos son mujeres y uno hombre.

De igual forma, las plaquetas son otros de los parámetros que se modifican debido a la inflamación, ya sea teniendo una trombocitosis o déficit de las mismas. En esta investigación, 9 de los 19 pacientes (47.36%) presentaron valores modificados en Plaquetas y MPV; 2 mujeres tuvieron alteración solo en las plaquetas (trombocitosis), 3 hombres y una mujer solo en MPV y 2 mujeres y un hombre presentaron alteración en ambos aspectos.

En el perfil Reumático, todos los parámetros del estudio presentaron alguna alteración, aunque no en todos los pacientes.

6 de los 14 pacientes que se realizaron el estudio (42.85%) presentaron valores altos de Proteína C reactiva, por lo que es un indicativo de un proceso inflamatorio presente (5 mujeres y un hombre), mientras que 7 de los 11 pacientes que se realizaron el examen de VSG (63.63%) presentaron alteraciones en sus valores,

indicando un progreso en estado del padecimiento (4 mujeres y 3 hombres). Solo 10 pacientes se realizaron los dos exámenes al mismo tiempo, donde 3 (30%) de ellos tienen valores altos en ambos aspectos, indicando un pronóstico grave en la enfermedad (2 mujeres y un hombre), 3 solo presentan alteración en VSG (2 mujeres y un hombre) y 4 no tuvieron ninguna alteración en dichos valores (3 hombres y 1 mujer) (Fernández et al, 2012, Molina 2007)

De las 8 personas que se realizaron el examen de Factor Reumatoide, solo 1 paciente (mujer, 5.26%), presentó valores altos del mismo, de igual modo con el estudio de Antiestreptolisinas, donde solo un paciente (mujer, 5.26%) tuvo alteración, indicando una posible infección bacteriana por estreptococos (Fernández et al, 2012, Molina 2007)

El único estudio que presentó más del 50% de alteración fue VSG, donde 7 de los 11 pacientes que se realizaron el estudio se encontraron con valores altos, indicando así un progreso en la enfermedad (4 mujeres y 3 hombres)

De igual forma se realizó una clasificación de los anteriores exámenes tomando en cuenta dos criterios: edad y sexo.

De acuerdo a lo obtenido de ambos exámenes en la clasificación por sexo (Femenino y Masculino), observamos que el 100% de los valores incluidos en la Biometría Hemática Completa y Perfil Reumático se encuentran modificados en el caso de las mujeres, mientras que el 26.31% de los estudios en los hombres no presentan ninguna modificación. En el caso de las mujeres, 31.57% de los estudios no tuvieron alteraciones a niveles altos, y 36.84% en valores bajos. Con la parte masculina, 42.10% de los resultados no presentaron alteración por encima de los valores de referencia y 68.42% a niveles por debajo del mismo.

Para las mujeres, los estudios que se encontraron en mayor proporción por encima de los valores de referencia fue RDW y Proteína C Reactiva, y los estudios que presentaron en mayor porcentaje alteraciones por debajo fueron la Hemoglobina, Hematocrito y HCM. En el caso de los hombres, aquellos valores que dieron

resultados altos fueron MPV y VSG, mientras que Hemoglobina y Hematocrito fueron los de mayor incidencia en los valores bajos.

Tomando en cuenta la clasificación por edades (Adulto joven, maduro y mayor), obtenemos que, en el caso del Adulto joven, 15.78% de los estudios no presentan ninguna alteración, en el Adulto maduro es el 10.52% y con los Adultos Mayores es el 46.66% de la población.

Con los Adultos jóvenes, 42.10% de los estudios no presentó alteraciones altas y 52.63% en alteraciones bajas. Con el Adulto maduro, los porcentajes fueron 42.10% y 57.89% respectivamente, y con los Adultos mayores fueron 57.89% y 78.94%

Los estudios que presentaron mayores alteraciones a niveles altos en el caso de los Adultos jóvenes fueron Monocitos, RDW y VSG. Para los valores bajos, aquellos con mayor incidencia fueron Hemoglobina, Hematocrito y HCM.

En el caso de los Adultos maduros, los mayores porcentajes en valores altos estuvieron en VSG, mientras que los bajos prevalecieron con Hemoglobina, Hematocrito y Plaquetas.

Para los Adultos mayores, los valores altos estuvieron predominando con VSG (con 100% de la alteración), y en los valores bajos, se tuvieron a Linfocitos, Hemoglobina, Hematocrito y Plaquetas.

# **CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES**

La artritis reumatoide es una enfermedad que requiere de un diagnóstico integral al igual que del seguimiento de los fármacos que se receten. Desde finales del siglo pasado, los fármacos biotecnológicos han dado una mejor calidad de vida a los pacientes, pero con el paso del tiempo, la generación de inmunogenicidad que llegaba a inhibir la actividad del antirreumático y la cantidad de fármaco en circulación ha sido un problema en el tratamiento de estos pacientes.

Dentro de la primera generación de antirreumáticos biológicos, se encuentra el etanercept, proteína de fusión que tiene como principal objetivo, actuar sobre el Factor de Necrosis Tumoral alfa, inhibiendo así la actividad inflamatoria. Al ser un fármaco de origen proteico, su inmunidad es nata, por lo que es altamente probable que las personas que lo consumen generen anticuerpos, aunque en posteriores investigaciones han visto que este fármaco es considerado el menos inmunogénico, ya que el porcentaje de quien lo genera es bajo, y en su mayoría son de carácter no neutralizante, por lo que no afectan la actividad del fármaco.

Con lo obtenido, tanto en los resultados de los kits como de los análisis clínicos nos percatamos de que las personas que consumen etanercept en esta población generan inmunogenicidad, aunque no sobrepasando el porcentaje de algunas investigaciones que indican que hasta el 18% de las personas que son tratadas con el mismo generan inmunogenicidad, en este caso fue el 10.52% del total. (2 mujeres). Comparándolo con lo obtenido en el kit ETN, dichos anticuerpos no alteraron la cantidad de fármaco en circulación, por lo que podemos hablar de la existencia de no neutralizantes. En el caso del kit ETN, 2 personas (2 hombres) distintas a las anteriores presentaron resultados negativos para el fármaco en circulación, pero también dieron esos resultados en el kit anti-ETN, por lo que la baja concentración de etanercept para estos pacientes tienen otras causas distintas a una posible inmunogenicidad.

De igual forma, los exámenes de laboratorio no llegan a ser determinantes, pero si son una guía para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con alguna enfermedad autoinmune. En este caso, las 2 pacientes que obtuvieron valores positivos para inmunogenicidad presentan alteraciones a nivel de Perfil Reumático

y solo una de ellas presenta un cuadro anémico, lo cual, es independiente a la generación de anticuerpos, ya que, por lo obtenido en el kit ETN, podemos decir que son de carácter no neutralizante.

El padecimiento más común en personas con artritis reumatoide es la anemia de carácter crónica, la cual se pudo apreciar en 6 pacientes de la población estudiada, al igual que la modificación en los valores plaquetarios (9 pacientes) lo cual también es “normal” en este tipo de pacientes.

Las modificaciones en los valores del Perfil Reumático nos indican el estadio de la enfermedad en distintos momentos: 6 pacientes presentaron alteraciones en Proteína C reactiva, señalando inflamación, 7 pacientes tuvieron valores de Velocidad de Sedimentación Globular altos, usado como señal de avance en el padecimiento. 10 pacientes se realizaron los dos estudios al mismo tiempo, y solo 3 de ellos tienen alteraciones en ambos, indicando así un pronóstico grave de la enfermedad.

Se sabe que la artritis reumatoide tiene mayor incidencia en las mujeres y predomina en el rango de edad entre 35-50 años, es por ello que se decidió hacer un análisis tomando en cuenta estos dos aspectos, comprobando así que dicha enfermedad afecta en su mayoría al sexo femenino, ya que el 100% de los estudios realizados se encuentran alterados, mientras que el 26.31% de los resultados para los hombres no tienen modificación alguna. Tomando como referencia la edad, la mayor cantidad de valores modificados se encuentran en el rango de edad de 19-40 años (15.78% de valores normales)

Todos los cambios en los exámenes clínicos se consideran un evento ajeno a la inmunogenicidad del fármaco, ya que, comparando lo obtenido en los kits y los resultados en los estudios, denotamos una nula asociación entre ellos. Se sabe que un porcentaje considerable no responde al tratamiento inicialmente dado, y ese puede ser el caso de estos pacientes.

Es importante saber que los fármacos biológicos de carácter anti-TNF $\alpha$  tienden a producir inmunogenicidad, por lo que es importante llevar un seguimiento posterior al tratamiento.

Investigaciones del 2014 han descubierto incluso la naturaleza como tal de los anticuerpos generados tras el consumo de fármacos como adalimumab e infliximab, los cuáles han sido detectados como inhibidoras de la actividad de los medicamentos (IgG4), por lo que es necesario conocer más acerca de los efectos de los fármacos anti-TNF $\alpha$ . Aunque hay investigaciones (que son la mayoría), que descartan la actividad de los anticuerpos generados por etanercept sobre el fármaco, no lo exenta de que llegue a pasar, recordemos que este padecimiento es incierto desde el momento de su diagnóstico, por lo que es necesario ampliar el conocimiento de dicha enfermedad y llevar un control en la dosificación de los distintos fármacos biológicos.

## REFERENCIAS:

- Salinas-Escudero, G., Vargas-Valencia, J., García-García, E., Muciño-Ortega, E. y Galindo-Suárez, R., (2013) “Etanercept y otras terapias biológicas en artritis reumatoide. Un análisis de costo-efectividad” en *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social* [En línea] Año 51, número 5, Instituto Mexicano del Seguro Social, disponible en <http://www.redalyc.org> [Accesado el 15 de Septiembre de 2018]
- Valor, L., de la Torre, I. (2013). “Comprender el concepto de inmunogenicidad” en *Reumatol Clin* [En línea] Año 9, número 1, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, disponible en <http://www.reumatologiaclinica.org> [Accesado el 19 de Septiembre de 2018]
- Tornero, J. (2002). “Etanercept” en *Rev Esp Reumatol* [En línea] Año 29, número 3, Hospital General Universitario de Guadalajara, disponible en <http://www.elsevier.es> [Accesado el 15 de Septiembre de 2018]
- Sánchez-Benavides, M., Pacheco-Salazar, A., Monge-Zeledón, P. (2017). “Infecciones severas en pacientes con artritis reumatoide tratados con fármacos antagonistas del factor de necrosis tumoral alfa” en *Acta Médica Costarricense* [En línea] Año 59, número 1, Colegio de Médicos y Cirujanos de Costa Rica, disponible en <http://www.redalyc.org> [Accesado el 15 de Septiembre de 2018]
- López, J.M. (2011). *Bienvenido a Info-Farmacia.com. Zaragoza: Etanercept para la artritis reumatoide: informe técnico* [online]. Recuperado de <http://www.info-farmacia.com> [Accesado el 15 de Septiembre de 2018]
- Gómez-Reino, JJ. (2002). “El papel del factor de necrosis tumoral en la inflamación y el daño articular en la artritis reumatoide” en *Revista Española de Reumatología Suplementos* [En línea] Año 1, número 2, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago, disponible en <http://www.elsevier.es> [Consultado el 15 de Septiembre de 2018]
- Catay, E.R., Soriano, E. (2014). “Tratamiento biológico en Reumatología” en *Revista del Hospital Italiano de Buenos Aires* [En línea] Año 34, número 3,

Hospital Italiano de Buenos Aires, disponible en [www1.hospitalitaliano.org.ar](http://www1.hospitalitaliano.org.ar) [Accesado el 28 de Septiembre de 2018]

- Suárez, I. Metodología ELISA para estudiar la estabilidad de medicamentos biotecnológicos [tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada; 2017. 539 p.
- Castañeda, S., González-Álvaro, I. (2017). “Novedades en el panorama terapéutico de la artritis reumatoide” en *Reumatología Clínica* [En línea] Año 13, número 2, Hospital de la Princesa, disponible en <http://www.elsevier.es> [Accesado el 28 de Septiembre de 2018]
- Ugarte-Gil, M.F., Acevedo-Vásquez, E.M., Alarcón, G.S. (2013) “Terapia biológica en enfermedades reumatológicas” en *Revista Médica Herediana* [En línea] Año 24, número 2, Universidad Peruana Cayetano Heredia, disponible en <http://www.redalyc.org> [Accesado el 28 de Septiembre de 2018]
- Bernal Rivera, L., Guerrero Aznar, M.D., Monzón Moreno, A., Beltrán García, M., Hernández Cruz, B., Colmenero, M.A. (2006) “Efectividad y seguridad de adalimumab y etanercept en artritis reumatoide en un hospital de tercer nivel” en *Servicios de Farmacia y Reumatología* [En línea] Año 30, número 4, Hospital Universitario Virgen Macarena, disponible en <http://www.elsevier.es> [Accesado el 28 de Septiembre de 2018]
- Gómez, A. (2011) “Nuevos criterios de clasificación de artritis reumatoide” en *Reumatología Clínica* [En línea] Año 6, número S3, Hospital de Sabadell, disponible en <http://www.elsevier.es> [Accesado el 28 de Septiembre de 2018]
- Gutiérrez, C., Chacón, M., Pérez-Ybarra, L., Guzmán, N., González, Y., Luis-León, J. (2015) “TÍTULO DE ANTIESTREPTOLISINA O Y FRECUENCIA DE ESTREPTOCOCOS BETAHEMOLÍTICOS EN ESTUDIANTES DE 10 A 15 AÑOS DEL MUNICIPIO FRANCISCO LINARES ALCÁNTARA, ESTADO ARAGUA, VENEZUELA” en *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente* [En línea] Año 27, número 3, Universidad de Oriente, disponible en <http://www.redalyc.org> [Accesado el 9 de Octubre de 2018]

- Amezcua–Guerra, L., Springall del Villar, R., Bojalil, R. (2007) “Proteína C reactiva: aspectos cardiovasculares de una proteína de fase aguda” en *Medigraphic* [En línea] Año 77, número 1, Departamento de Inmunología. INCICH, disponible en <http://www.scielo.org.mx> [Accesado el 9 de Octubre de 2018]
- Mendoza Coussette, U., Alonso Biosca, M. (2015) “Factor reumatoide. Asociación con marcadores de riesgo aterogénico en pacientes con artritis reumatoide” en *Revista Cubana de Reumatología* [En línea] Año 17, número 2, Universidad de la Habana, disponible en <http://www.scielo.org.mx> [Accesado el 9 de Octubre de 2018]
- Corominas, A., Balconi, S., Palermo, M., Maskin, B., Damiano, A. (2014) “NIVELES DE ÁCIDO ÚRICO SÉRICO Y RIESGO DE DESARROLLAR PREECLAMPSIA” en *Medicina* [En línea] Año 74, número 6, Hospital Nacional Prof. Dr. Alejandro Posadas, disponible en <http://www.scielo.org.mx> [Accesado el 9 de Octubre de 2018]
- Romero, J. (2002) “Utilidad diagnóstica de la velocidad de sedimentación globular” en *Medicina Integral* [En línea] Año 39, número 7, Centro de Salud de Pozoblanco, disponible en <http://www.elsevier.es> [Accesado el 9 de Octubre de 2018]
- Lozano-Triana, C. (2016) “Examen general de orina: una prueba útil en niños” en *Rev. Fac. Med.* [En línea] Año 64, número 1, Universidad Nacional de Colombia, disponible en <http://www.scielo.org.mx> [Accesado el 9 de Octubre de 2018]
- López-Santiago, N. (2016) “La biometría hemática” en *Acta Pediátrica de México* [En línea] Año 37, número 4, Instituto Nacional de Pediatría, disponible en <http://www.scielo.org.mx> [Accesado el 9 de Octubre de 2018]
- Corominas, H. y Shmerling, R. (2017) “What lies in the near future for the treatment of rheumatoid arthritis?” en *Reumatol Clin* [En línea] Año 13, número 5, Division of Rheumatology, disponible en <http://www.reumatologiaclinica.org> [Accesado el 7 de Noviembre de 2018]

- EUPATI (2015). *Fármacos biológicos* [online]. Recuperado de <https://www.eupati.eu> [Accesado el 7 de Noviembre de 2018]
- Henrique da Motaa, L., Cruz, B., Brenol, C., Pollak, D., Castelar, G., Magalhães, I., Alves, I., Freire, J., Barros, M., De Medeiros, M., Carioca, M., Da Silva, N., Louzada-Júnior, P., Sampaio-Barros, P., Neubarth, R., Corrêa, R. y Coelho, L. (2015) “Safe use of biological therapies for the treatment of rheumatoid arthritis and spondyloarthritides” en *Rev Bras Reumatol* [En línea] Año 55, número 3, Universidade de Brasília, disponible en <http://www.scielo.br> [Accesado el 8 de Noviembre de 2018]
- Dirección de medicamentos y tecnologías en salud, Ministerio de Salud (2015) “ABECÉ sobre inmunogenicidad” [En línea], Colombia, disponible en <https://www.minsalud.gov.co> [Accesado el 14 de Noviembre de 2018]
- Calabozo, B., n.d. *Etanercept biosimilar es menos inmunógeno que el de referencia* [Internet blog] Disponible en <https://www.saludcastillayleon.es> [Accesado el 14 de Noviembre de 2018]
- Machado, N., Téllez, G., Castaño, J. (2006) “Anticuerpos monoclonales: desarrollo físico y perspectivas terapéuticas” en *Asociación Colombiana de Infectología* [En línea] Año 10, número 3, Universidad de Sucre, disponible en <http://www.scielo.br> [Accesado el 15 de Noviembre de 2018]
- Calderón, R. n.d. *Instituto de Biotecnología* [Internet blog][Accesado el 15 de Noviembre de 2018] Disponible en <http://www.ibt.unam.mx>
- Nacional Cancer Institute, n.d. [Internet blog] Disponible en <https://www.cancer.gov/> [Consultado el 22 de Noviembre de 2018]
- Fernández, A., Llorernte, M. (2012) “Diagnóstico y seguimiento de la Artritis Reumatoide” en *Educación Continuada en el Laboratorio Clínico* [En línea] Año 16, Hospital Universitario de Móstoles, disponible en <http://www.seqc.es> [Accesado el 3 de Diciembre de 2018]
- Molina, J. “El laboratorio en enfermedades reumáticas autoinmunes” en *Medicina & Laboratorio* [En línea] Año 13, números 1 y 2, Universidad de Antioquia, disponible en <http://www.medigraphic.com> [Accesado el 3 de Diciembre de 2018]

- Guía de Práctica Clínica, Diagnóstico y Tratamiento de Artritis Reumatoide del Adulto, Catálogo Maestro de práctica clínica: IMSS-195-08.+
- [Moots](#), R., [Xavier](#), R., [Mok](#), C., [Rahman](#), M., [Tsai](#), W., [Al-Maini](#), M., [Pavelka](#), K., [Mahgoub](#), E., [Kotak](#), S., [Korth-Bradley](#), J., [Pedersen](#), R., [Mele](#), L., [Shen](#), Q. y [Bonnie Vlahos](#) (2017) “The impact of anti-drug antibodies on drug concentrations and clinical outcomes in rheumatoid arthritis patients treated with adalimumab, etanercept, or infliximab: Results from a multinational, real-world clinical practice, non-interventional study” en PLOS ONE [En línea] Año 14, número 4, Aintree University Hospital, disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> [Accesado el 8 de Diciembre de 2018]
- [Benucci](#), M., [Gobbi](#), F., [Meacci](#), F., [Manfredi](#), M., [Infantino](#), M., [Severino](#), M., [Testi](#), S., [Sarzi-Puttini](#), P., [Ricci](#), C., [Atzeni](#), F (2015) “Antidrug antibodies against TNF-blocking agents: correlations between disease activity, hypersensitivity reactions, and different classes of immunoglobulins” en Dovepress [En línea] Año 2015, número 9, Rheumatology Unit, disponible en <https://www.dovepress.com> [Accesado el 14 de Diciembre de 2018]