



**Universidad de Concepción  
Facultad Farmacia**

**CARACTERIZACIÓN DE LA RELACIÓN  
NEUTRÓFILO/LINFOCITO DE PACIENTES CON  
ARTRITIS REUMATOIDE EN TERAPIA BIOLÓGICA**



**POR**

**BELÉN DEL CARMEN CÁCERES GUERRERO**

**Trabajo de Fin de Carrera presentado a la Facultad de Farmacia de la Universidad  
de Concepción para optar al título profesional de Químico Farmacéutico**

**Profesora Patrocinante: Dra. Estefanía Nova Lamperti  
Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Universidad de Concepción**

**Profesora Guía: Dra. Liliana Lamperti Fernández  
Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Universidad de Concepción**

**Profesora Co-Guía: Dra. Valeska Ormazábal Valladares  
Dpto. de Farmacología, Universidad de Concepción**

**Mayo, 2020  
Concepción, Chile**



**Universidad de Concepción  
Facultad Farmacia**

**CARACTERIZACIÓN DE LA RELACIÓN  
NEUTRÓFILO/LINFOCITO DE PACIENTES CON  
ARTRITIS REUMATOIDE EN TERAPIA BIOLÓGICA**



**POR**

**BELÉN DEL CARMEN CÁCERES GUERRERO**

**Trabajo de Fin de Carrera presentado a la Facultad de Farmacia de la Universidad  
de Concepción para optar al título profesional de Químico Farmacéutico**

**Profesora Patrocinante: Dra. Estefanía Nova Lamperti  
Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Universidad de Concepción**

**Profesora Guía: Dra. Liliana Lamperti Fernández  
Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Universidad de Concepción**

**Profesora Co-Guía: Dra. Valeska Ormazábal Valladares  
Dpto. de Farmacología, Universidad de Concepción**

**Mayo, 2020  
Concepción, Chile**



Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

© 2020, Belén Cáceres Guerrero

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, nada de lo que he conseguido en mi vida podría haberlo logrado sin el apoyo infinito de mis padres, que han estado en todos los momentos en que he necesitado apoyo. Para mi madre que ha sido el pilar fundamental en mi vida, a quien le debo la persona que soy hoy en día, sólo puedo darle las gracias desde el fondo de mi corazón por haber creído en mí, y siempre sentirse orgullosa de su hija, te amo mami y para mí siempre serás una mujer maravillosa y quisiera ser algún día la mitad de lo que eres tú. Papá a pesar de que el camino ha sido difícil, agradezco todas tus palabras y por apoyarme. Siempre recordaré la vez que me dijiste: “hija estudia lo que tú quieras, yo sé que te irá bien en lo que decidas hacer”, gracias por inculcarme estudiar y querer superarme, te amo papá.

Para ti Alejandro, que haz sido la casualidad más bonita que me ha dejado mi paso por la universidad, por decidir quedarte junto a mí durante estos largos 9 años y apoyarme en mis momentos difíciles, en mis derrotas y fracasos, en mis alegrías y penas, por haber contribuido en la ejecución de este escrito, sólo puedo darte las gracias y decirte que siempre estaré para ti y te apoyaré incondicionalmente.

Agradecer a mi hermano Richards, por ser el regalo más lindo que pudo haberme dado alguna vez mi mamá, eres el motor que me impulsó a querer salir adelante, no dormir por estudiar, para poder forjar un mejor futuro para ti y que jamás te falte nada, te amo piojo y sabes que siempre contarás conmigo.

Para la persona que me acompaña desde el cielo, mi tía Tita, que fue muy importante en mi desarrollo académico y me enseñó el amor por los libros y por la lectura. Te extraño y no sabes lo que me gustaría que estuvieras aquí hoy, cuando cierro una tan importante etapa de mi vida, pero sé que de donde estés, me haz apoyado y alentado. Un beso al cielo Tía.

Para mi Tío Lele, que ha estado en muchos momentos en mi vida y ha sido un apoyo incondicional. Muchas gracias por estar siempre presente y por quererme como si fuera su nieta.

Agradecer a mis profesoras, Dra. Liliana Lamperti, Dra. Estefanía Nova y Dra. Valeska Ormazábal, por haber confiado en mí y prestarme su apoyo en la

elaboración de este trabajo de fin de carrera y a la Dra. Irene Castro, por su indispensable ayuda.

Agradecer a mi familia, mi abuela y primos, por haberme apoyado y estar conmigo a la distancia, sin lugar a dudas guardan un lugar en mi corazón. A mi querida amiga Ivonne que me ha soportado por estos largos 15 años, gracias por estar en todos los momentos difíciles.

A mis amigos que forjé en la Universidad, Iván, Scarlett y Toño, son personas muy importantes para mí y sin lugar a duda esto también es fruto de su apoyo y compañía, les deseo el mejor de los éxitos en todo lo que se viene, sé que tendrán un futuro brillante, los quiero.

A todos los que de alguna manera han participado en la elaboración de este trabajo y a los que han formado parte de mi vida, gracias.



## ÍNDICE

RESUMEN .....	xi
ABSTRACT .....	xiv
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Artritis Reumatoide .....	1
1.1.1. Definición de la Artritis Reumatoide, epidemiología en Chile e introducción a la problemática.....	1
1.1.2. Métodos de evaluación y seguimiento de la actividad de la Artritis Reumatoide.....	4
1.1.3. Tratamiento Farmacológico de la Artritis Reumatoide.....	11
1.2. El hemograma y su utilidad en enfermedades relacionadas al sistema inmune.....	18
1.2.1. Eritrocitos .....	18
1.2.2. Plaquetas .....	20
1.2.3. Leucocitos .....	20
1.3. La Relación Neutrófilo/Linfocito.....	29
2. HIPÓTESIS .....	35
3. OBJETIVOS .....	36
3.1. Objetivo general.....	36
3.2. Objetivos específicos .....	36
4. MATERIALES Y MÉTODO.....	37
4.1. Caracterización de la NLR en pacientes con AR y sujetos controles.....	37
4.1.1. Descripción del estudio .....	37
4.1.2. Reclutamiento de participantes .....	37
4.1.3. Toma de muestra .....	38
4.1.4. Análisis de muestra .....	38
4.1.5. Cálculo de la Relación Neutrófilo/Linfocito .....	39
4.1.6. Obtención del DAS28-VHS de los pacientes con Artritis Reumatoide.....	39
4.1.7. Tratamiento de datos .....	39

4.1.8.	Análisis estadístico.....	40
4.2.	Caracterización de la NLR en pacientes con AR en terapia biológica .....	40
4.2.1.	Descripción del estudio .....	40
4.2.2.	Obtención de datos .....	41
4.2.3.	Criterios de selección de pacientes.....	43
4.2.4.	Criterios de Inclusión.....	43
4.2.5.	Criterios de Exclusión.....	43
4.2.6.	Datos solicitados .....	44
4.2.7.	Tratamiento de datos .....	44
4.2.8.	Análisis estadístico.....	45
4.3.	Caracterización de la NLR según terapia biológica .....	47
4.3.1.	Selección de muestra de pacientes.....	47
4.3.2.	Tratamiento de datos .....	47
4.3.3.	Análisis estadístico.....	47
5.	RESULTADOS .....	49
5.1.	Caracterización de la NLR en pacientes con AR y sujetos controles.....	49
5.1.1.	Caracterización de participantes .....	49
5.1.2.	Determinación de la Relación Neutrófilo/Linfocito .....	49
5.1.3.	Comparación entre grupos según actividad de la enfermedad .....	51
5.1.4.	Correlaciones con la NLR .....	54
5.2.	Caracterización de la NLR en pacientes con AR en terapia biológica .....	57
5.2.1.	Caracterización de los pacientes con Artritis Reumatoide en terapia biológica .....	57
5.2.2.	Promedios de las variables .....	57
5.2.3.	Correlación con la Relación Neutrófilo/Linfocito .....	60
5.2.4.	Correlación de la NLR con DAS28-VHS según serología .....	66
5.2.5.	Comparación de la Relación Neutrófilo/Linfocito según actividad de la enfermedad .....	71
5.3.	Caracterización de la NLR según terapia biológica .....	74

5.3.1.	Caracterización de los pacientes con Artritis Reumatoide con tratamiento por seis meses .....	74
5.3.2.	Comparación entre grupos .....	75
6.	DISCUSIÓN .....	93
6.1.	Caracterización de la NLR en pacientes con AR y sujetos controles.....	93
6.1.1.	Determinación de la Relación Neutrófilo/Linfocito .....	93
6.1.2.	Comparación entre grupos según actividad de la enfermedad .....	95
6.1.3.	Correlación con la Relación Neutrófilo/Linfocito .....	96
6.2.	Caracterización de la NLR en pacientes con AR en terapia biológica .....	96
6.2.1.	Caracterización de los pacientes con AR en terapia biológica.....	97
6.2.2.	Correlación con NLR .....	98
6.2.3.	Correlación según serología.....	100
6.2.4.	Comparación de la NLR según actividad de la enfermedad .....	101
6.3.	Caracterización de la NLR según terapia biológica .....	102
6.3.1.	Caracterización de los pacientes con AR en tratamiento con terapia biológica por seis meses .....	102
6.3.2.	Caracterización de la NLR según efectividad de la terapia .....	103
6.3.3.	Caracterización de la NLR en pacientes según su tratamiento .....	104
7.	CONCLUSIÓN .....	107
8.	PROYECCIONES .....	108
9.	GLOSARIO.....	109
10.	BIBLIOGRAFÍA .....	112
11.	ANEXOS .....	117
N°1	Consentimiento Informado proyecto “Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340” .....	117
N°2	Consentimiento informado Prevegen para sujetos controles.....	122
N°3	Registro de información presentada a CEC .....	124
N°4	Carta de aprobación del comité de ética de HGGB .....	125



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b> Clasificación de la actividad de la enfermedad, para pacientes con AR según valor de DAS28-VHS.....	9
<b>Tabla 4-1:</b> Asignación de funciones del equipo de investigación. ....	42
<b>Tabla 5-1:</b> Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de actividad de la enfermedad para pacientes con AR.....	53
<b>Tabla 5-2:</b> Valores promedio para los 316 controles, de 91 pacientes con AR en terapia biológica.....	58
<b>Tabla 5-3:</b> Valores promedio de NLR y DAS28-VHS para 91 pacientes en terapia biológica, según Factor Reumatoide.....	59
<b>Tabla 5-4:</b> Valores promedio de NLR y DAS28-VHS para 91 en terapia biológica, según Anticuerpos Anti-Péptido Citrulinado.....	59
<b>Tabla 5-5:</b> Significancia de la prueba de Tukey de comparación de NLR entre grupos de actividad de la enfermedad en paciente con AR en terapia biológica. ..	73
<b>Tabla 5-6:</b> Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica efectiva. ....	77
<b>Tabla 5-7:</b> Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica inefectiva. ....	80
<b>Tabla 5-8:</b> Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica efectiva con Abatacept. ....	82
<b>Tabla 5-9:</b> Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica refractaria a Abatacept. ....	84
<b>Tabla 5-10:</b> Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica efectiva a Etanercept.....	86
<b>Tabla 5-11:</b> Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica efectiva a Adalimumab. ....	90
<b>Tabla 5-12:</b> Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica refractaria a Adalimumab. ....	92

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1-1:</b> Diagrama de las articulaciones cuantificadas en AR.....	5
<b>Ilustración 1-2:</b> Flujograma del manejo terapéutico del paciente con artritis reumatoide.....	14
<b>Ilustración 5-1:</b> Determinación de la Relación Neutrófilo/Linfocito en individuos control y pacientes con AR. ....	50
<b>Ilustración 5-2:</b> NLR en pacientes con AR según actividad de la enfermedad. Relación Neutrófilo Linfocito (NLR) para muestra de pacientes con Artritis reumatoide en Actividad .....	52
<b>Ilustración 5-3:</b> Correlación de NLR versus DAS28-VHS. Correlación entre NLR y DAS28-VHS para 11 pacientes con Artritis reumatoide.....	55
<b>Ilustración 5-4:</b> Correlación de NLR versus VHS. Correlación de la NLR versus VHS, para 11 pacientes con Artritis reumatoide. ....	56
<b>Ilustración 5-5:</b> Correlación de NLR versus DAS28-VHS. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. ....	61
<b>Ilustración 5-6:</b> Correlación NLR versus Articulaciones Dolorosas. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. ....	62
<b>Ilustración 5-7:</b> Correlación NLR versus Articulaciones Inflamadas. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. ....	63
<b>Ilustración 5-8:</b> Correlación NLR versus EVA. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica .....	64
<b>Ilustración 5-9:</b> Correlación NLR versus VHS. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. ....	65
<b>Ilustración 5-10:</b> Correlación de NLR versus DAS28-VHS en pacientes con AR con FR positivo. Para 217 controles de 65 pacientes con FR positivo. ....	67
<b>Ilustración 5-11:</b> Correlación de NLR versus DAS28-VHS en pacientes con AR con FR negativo. Para 99 controles de 16 pacientes con FR negativo. ....	68
<b>Ilustración 5-12:</b> Correlación de NLR versus DAS28-VHS en pacientes con AR con Anti-CCP positivo. Para 250 controles de 73 pacientes con Anti-CCP positivo.....	69
<b>Ilustración 5-13:</b> Correlación de NLR versus DAS28-VHS en pacientes con AR con Anti-CCP negativo. Para 64 controles de 18 pacientes con Anti-CCP negativo. ....	70
<b>Ilustración 5-14:</b> Comparación de promedios de NLR según clasificación de la actividad de la enfermedad. Para los 316 controles de 91 pacientes con AR en terapia biológica.....	72

<b>Ilustración 5-15:</b> Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica efectiva. Para 30 pacientes con terapia biológica efectiva con Abatacept, Etanercept y Adalimumab. ....	76
<b>Ilustración 5-16:</b> Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica refractaria. Para 11 pacientes con terapia biológica refractaria a Etanercept, Abatacept y Adalimumab. ....	79
<b>Ilustración 5-17:</b> Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica efectiva a Abatacept. Para 9 pacientes con terapia biológica efectiva con Abatacept. ....	81
<b>Ilustración 5-18:</b> Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica refractaria a Abatacept. Para 7 pacientes refractarios a Abatacept.....	83
<b>Ilustración 5-19:</b> Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica efectiva a Etanercept. Para 9 pacientes con terapia biológica efectiva con Etanercept. . ....	85
<b>Ilustración 5-20:</b> Comparación de la NLR en los controles médicos en paciente con AR en terapia biológica refractaria a Etanercept.....	87
<b>Ilustración 5-21:</b> Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica efectiva a Adalimumab. Para 13 pacientes con terapia biológica efectiva con Adalimumab. ....	89
<b>Ilustración 5-22:</b> Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica refractaria a Adalimumab. Para 3 pacientes refractarios a Adalimumab.....	91

## RESUMEN

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad crónica y de carácter autoinmune, que afecta a las articulaciones con cavidad articular. Se caracteriza por presentar síntomas de inflamación y dolor, que de no ser controlados producen deformidad y disfuncionalidad de articulaciones, huesos y músculos, pudiendo llegar a producir discapacidad. El tratamiento farmacológico está orientado a disminuir la inflamación con diversos medicamentos inmunosupresores, uno grupo de ellos son los anticuerpos monoclonales, que se encuentran incluidos en la Ley Ricarte Soto. Sin embargo, a pesar de ser esta terapia el último recurso para el control de la inflamación en estos pacientes, tienen un gran porcentaje de fracaso terapéutico, ya que ningún examen de rutina permite evaluar el efecto del anticuerpo a tempranas etapas de tratamiento y se debe esperar a el control médico a los 6 meses que orienta la continuidad o el cambio de terapia. Para esto se ha propuesto a la Relación Neutrófilo/Linfocito (NLR), como un buen marcador inflamatorio para la evolución de la AR, que presenta una disminución a los 3 meses de terapia.

**Objetivo:** Determinar la relación neutrófilo/linfocito (NLR) en pacientes con Artritis Reumatoide durante tratamiento biológico efectivo de 6 meses.

**Metodología:** Se trabajó con una base de datos anonimizada de 91 pacientes del Policlínico de Reumatología deL Hospital HGGB de Concepción en terapia biológica y se clasificaron según criterios de actividad de la enfermedad correspondiente al

año 2014 de la EULAR. Para 41 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión se calculó del hemograma la NLR con los valores absolutos de neutrófilos y linfocitos en el tiempo de inicio y a los 3 y 6 meses de terapia biológica.

**Resultados:** Los 91 pacientes AR presentaron anticuerpos positivos: Factor Reumatoide en 71,4% y Anti-CCP en 80,2%. Se determinó valor promedio de NLR en pacientes con actividad; alta ( $2.82\pm 2.95$ ), moderada ( $2.17\pm 1.86$ ), baja ( $1.68\pm 0.62$ ) y para los pacientes en remisión ( $1.65\pm 0.71$ ), siendo significativamente más alta en el grupo de alta actividad de la enfermedad en comparación con los otros 3 grupos. La clasificación según la efectividad de la terapia arrojó respuesta favorable en un 62.5% de los pacientes tratados con Abatacept 81.2% para Adalimumab y de 88.9% para Etanercept. LA NLR en estos 3 grupos de pacientes tratados con terapias biológicas efectiva fue 2.48 ( $p < 0.05$ ) antes del inicio de la terapia biológica, 1.77 para el primer control (3 meses) y 1.70 para el segundo control (6 meses). En los pacientes refractarios, la NLR fue 2.95 para antes del inicio de las terapias biológicas, y no mostraron cambios significativos con el primer control 2.76 y segundo control 2,39. Al comparar NLR según efectividad y tipo de terapia biológica, sólo los pacientes tratados con Adalimumab mostraron cambios significativos de NLR al inicio y primer control y segundo control.

**Conclusión:** La NLR es un buen indicador de efectividad de terapia, cuando este disminuye al tercer mes de tratamiento y es más representativo en pacientes tratados con Adalimumab.



## ABSTRACT

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease that affects joints with a joint cavity. This disease is characterized inflammation and pain, however, when these symptoms are not controlled, they can cause deformity and dysfunction of joints, bones and muscles, and can lead to disability. Pharmacological treatment aims to decrease inflammation with several immunosuppressive drugs, including monoclonal antibodies, which are included in the Ricarte Soto Law. However, in spite of being the last resource for the control of the inflammation in these patients, they have a great percentage of therapeutic failure, since no routine exam allows to evaluate the effect of the biological therapy at early stages of treatment and it is necessary to wait for the medical control at 6 months that orients the continuity or change of therapy. For this reason, the Neutrophil/Lymphocyte Ratio (NLR) has been proposed as a good inflammatory marker for the evolution of RA, which shows a decrease after 3 months of therapy.

**Aim:** Determine the neutrophil/lymphocyte ratio (NLR) in patients with rheumatoid arthritis during 6 months of effective biological therapy.

**Methodology:** We worked with an anonymized database of 91 patients from the Polyclinic of Rheumatology of the Hospital HGGB of Concepción in biological therapy and classified them according to criteria of disease activity corresponding to the year 2014 of the EULAR. For 41 patients who met the inclusion criteria, the NLR

was calculated from the hemogram with the absolute values of neutrophils and lymphocytes at the time of initiation and at 3 and 6 months of biological therapy.

**Results:** All 91 RA patients presented positive antibodies: Rheumatoid Factor in 71.4% and Anti-CCP in 80.2%. Average value of NLR was determined in patients with activity; high ( $2.82\pm 2.95$ ), moderate ( $2.17\pm 1.86$ ), low ( $1.68\pm 0.62$ ) and for patients in remission ( $1.65\pm 0.71$ ), being significantly higher in the group of high disease activity compared to the other 3 groups. The classification according to the effectiveness of therapy showed a favorable response in 62.5% of patients treated with Abatacept 81.2% for Adalimumab and 88.9% for Etanercept. The NLR in these 3 groups of patients treated with effective biological therapies was 2.48 ( $p < 0.05$ ) before the start of biological therapy, 1.77 for the first control (3 months) and 1.70 for the second control (6 months). In the refractory patients, the NLR was 2.95 for before the start of biological therapies and showed no significant change with the first control 2.76 and second control 2.39. When comparing NLR according to effectiveness and type of biological therapy, only patients treated with Adalimumab showed significant changes in NLR at baseline and first control and second control.

**Conclusion:** A reduction in the NLR at the third month of treatment is a good indicator of therapy effectiveness and is more representative of patients treated with Adalimumab.



## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Artritis Reumatoide**

#### **1.1.1. Definición de la Artritis Reumatoide, epidemiología en Chile e introducción a la problemática**

Las enfermedades reumáticas (ER), son aquellas enfermedades que afectan principalmente al tejido conectivo, estructura responsable del soporte de tejidos y órganos del cuerpo humano. Dentro de estas ER, se encuentran algunas enfermedades de origen autoinmune, en las cuales el sistema inmune pierde la tolerancia a ciertas estructuras o porciones de un constituyente de un tejido o célula, produciendo un ataque mediado por células y anticuerpos, que genera procesos inflamatorios y en consecuencia la destrucción de la estructura diana, desencadenando una patología de difícil manejo, con sintomatología específica, que de no ser controlada puede producir un gran daño en el paciente (Oliva et al., 2012).

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad reumática caracterizada por una inflamación crónica en la membrana sinovial de las articulaciones con movimiento libre y cavidad articular, denominadas articulaciones diartrodiales (Cael, 2012). Esta

patología a su vez se clasifica como enfermedad de origen autoinmune, ya que es producida por una exacerbación del sistema inmune que tiene como diana la membrana sinovial; y también, se clasifica como enfermedad sistémica, caracterizada por una inflamación poliarticular y simétrica de pequeñas y grandes articulaciones; también con rigidez matutina de las mismas de más de 30 minutos de duración (Ortiz y Laffon, 2000), pudiendo desencadenar otras complicaciones como vasculitis, glomerulonefritis y endocarditis. Sin embargo, la etiología es aún desconocida y pese al aumento significativo de investigaciones asociadas con los mecanismos fisiopatológicos de la AR, los resultados siguen sin ser concluyentes. En los últimos años, se han descrito varios factores que predisponen a los pacientes a padecer esta enfermedad, tales como el ambiente, la nutrición, el tabaquismo, la geografía y la etnia (Oliva et al., 2012), entre otros, considerando la AR como el resultado de la interacción de un antígeno desencadenante y una genética predisponente (Lozano, 2001).

Sin duda, el síntoma más característico de la AR, además de la inflamación, es el dolor. Éste, es mediado por la inflamación articular en primera instancia, pero al no ser controlado el cuadro, se desencadenan una serie de daños a la membrana sinovial y a las estructuras adyacentes, pudiendo provocar lesiones importantes, como la ruptura de tendón por injuria constante en la membrana sinovial que recubre el tendón. En el caso del tejido óseo, este se ve claramente afectado por el cuadro inflamatorio, produciendo en primera instancia luxación de los huesos, para seguir con una erosión que genera dolor crónico. Los pacientes con AR presentan

reducción en la movilidad articular, fuerza muscular, resistencia y capacidad aeróbica en comparación con personas sanas; lo que puede dar lugar a limitación en el desempeño de las actividades de la vida cotidiana en mayor o menor grado, y por consiguiente disminución de la calidad de vida (Oliva et al., 2012).

Un estudio realizado en Chile reporta que el 80% de las consultas realizadas por esta patología en atención primaria, son hechas por mujeres; de éstas, se pondera que por cuatro mujeres sólo hay un hombre que padece la enfermedad (Guzmán y Donaire, 2012).

Un gran porcentaje de población chilena aún no es diagnosticada o ha sido diagnosticada erróneamente, sin embargo sigue siendo una de las causas más frecuentes de consultas médicas reumatológicas en la actualidad.

El único estudio a nivel poblacional realizado en Chile estimó la prevalencia de la enfermedad en 0.46% (IC 95% 0.24 a 0.8). Considerando estos últimos valores y población del censo del año 2002, implicaría que el número de personas con AR en Chile estaría entre 27.000 y 90.000 pacientes (Informe de carga atribuible, 2008).

El gran porcentaje de la población que padece esta patología, acompañado de la elevada repercusión que poseen sus secuelas en la vida cotidiana, convierte a la AR en un considerable problema de salud pública. Teniendo en cuenta que la AR es una patología cubierta por las Garantías Explícitas en Salud (GES), y que la gran

mayoría de los pacientes con la enfermedad en estados avanzados es propensa a requerir licencias médicas y reportar invalidez, se deben considerar todos los factores que permitan prevenir las secuelas a largo plazo y dar una mejor calidad de vida al paciente.

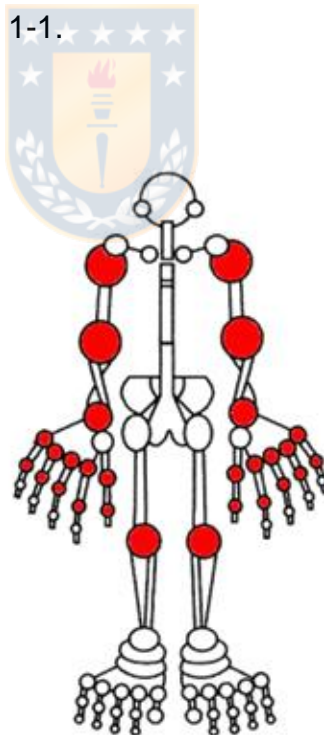
### **1.1.2. Métodos de evaluación y seguimiento de la actividad de la Artritis Reumatoide**

#### **1.1.2.1. Índice de la actividad de la enfermedad**

Se han desarrollado múltiples métodos para obtener una apreciación del estado del paciente con AR, entre ellos destacan el *Health Assessment Questionnaire-Disability Index* (HAQ-DI) de Stanford, las puntuaciones ACR20-50-70 del Colegio Americano de Reumatología (ACR) y el índice combinado de actividad de la enfermedad (DAS) por su sigla en inglés (*disease activity score*). Este último ha sido el más empleado ya que a diferencia de las puntuaciones ACR, el DAS es una medida de rango continuo, de tipo lineal y que no precisa establecer un punto de referencia previo, dando paso a una medición continuada del estado de actividad clínico tanto en pacientes individuales como en ensayos clínicos (Belmonte, 2008).

### 1.1.2.1.1. Variables cuantificadas en DAS-28

El DAS es una fórmula matemática, que incluye cuatro variables, de las cuales sólo tres se utilizan en las dos fórmulas existentes de DAS para AR y es en dos de estas variables que se cuantifican articulaciones de diferentes características. Las articulaciones que se evalúan son 28, es por eso que además de la denominación de la fórmula se le agrega el número 28 (DAS28), y se refiere a articulaciones de las rodillas (2), muñecas (2), hombros (2), codos (2) y de las manos, metacarpofalángicas (10) e interfalángicas proximales (10), esquematizadas a continuación en la ilustración 1-1.



**Ilustración 1-1:** Diagrama de las articulaciones cuantificadas en AR (Guía clínica para la AR, MINSAL, 2014)

Las variables cuantificadas son:

- a. Articulaciones Inflamadas, también denominadas sinovitis. El médico tratante es el encargado de observar y palpar la inflamación de las articulaciones del paciente. Es posible cuantificar el grado de inflamación a través de ecografías, para obtener un resultado más preciso.
- b. Articulaciones Dolorosas, también denominadas artralgias. El paciente refiere al médico cuáles son las articulaciones donde siente dolor. Es una variable cuestionada por la subjetividad del paciente, dado que se debe a una patología de carácter crónico y que produce secuelas, donde el daño óseo suele ser bastante pronunciado, por lo que frecuentemente existe dolor en la zona afectada que no se debe necesariamente a la inflamación de las articulaciones ni tiene por qué estar relacionada con la actividad de la enfermedad.
- c. Evaluación general de salud (EVA): es indicado por el paciente al médico tratante. Corresponde a una escala numerada del 0 al 100 que evalúa cualitativamente el estado del paciente. El número 0 hace referencia a “lo mejor que se ha sentido” y el número 100 a “lo peor que se ha sentido”. Si bien, el EVA solo está relacionado a la artritis reumatoide, muchas veces los

pacientes que padecen otras patologías y/o afecciones emocionales, informan valores cuestionables dada la evidente subjetividad de esta escala.

d. Finalmente, la última variable que se incluye en la fórmula de DAS28, corresponde a un marcador biológico intercambiable según el criterio del médico tratante y la recomendación de la guía clínica del país. Se denominan DAS28-VHS y DAS28-PCR según el marcador inflamatorio, que se detallan a continuación:

- i. Velocidad de eritrosedimentación globular (VHS): En estado fisiológico, la agregación de los eritrocitos ocurre lentamente debido a que los eritrocitos poseen carga neta negativa, por lo tanto, se repelen y sedimentan lentamente. Por otro lado, en condiciones patológicas, las proteínas de fase aguda con carga positiva, asociadas a procesos inflamatorios, neutralizan la carga del eritrocito, aumentando la eritrosedimentación, por lo que a mayor cantidad de milímetros de sedimento formados en una hora se asocian con un mayor proceso de inflamación. Por esto la VHS mide la velocidad de agregación de los eritrocitos para apilarse y formar las denominadas “pilas de monedas” (Campuzano, 2010).
- ii. Proteína C reactiva (PCR): forma parte de la inmunidad innata y su síntesis es inducida como respuesta al daño tisular por infecciones,

inflamación o neoplasias. Es sintetizada por hepatocitos y células del endotelio vascular (Amezcueta et al., 2007).

La VHS y la PCR, actúan como marcadores generales de inflamación, por lo que se elevan en diversos procesos patológicos que incluyen, infecciones, infartos, traumatismos o enfermedades reumatológicas. Estos se suelen considerar como parámetros inespecíficos de diagnóstico y marcadores de severidad.

Los resultados obtenidos son cuantificables y clasifica a los pacientes en cuatro grupos según la actividad de la enfermedad. En Chile se utiliza el valor DAS28-VHS, que permite entregar antecedentes a los médicos reumatólogos acerca de la mantención o cambio de la terapia farmacológica. Estas recomendaciones siguen la indicación de la Liga Europea contra el Reumatismo o EULAR, que en el año 2014, publicó las últimas pautas de clasificación para pacientes con artritis reumatoide, ya que hasta la fecha no se han realizado modificaciones, y es la clasificación que recomienda la guía clínica para la AR del MINSAL, del mismo año (Smolen, 2014) (Tabla 1-1).



**Tabla 1-1:** Clasificación de la actividad de la enfermedad, para pacientes con AR según valor de DAS28-VHS.

Valores DAS28-VHS	Actividad de la Enfermedad
Mayor a 5,1	Actividad Alta
Entre 3,2 y 5,1	Actividad Moderada
Menor a 3,2	Actividad Baja
Menor a 2,6	Remisión



#### 1.1.2.2. Serología

Ante la sospecha de que un paciente padezca AR, además de evaluar su sintomatología clínica y con la finalidad de entablar un diagnóstico inicial confirmatorio, se deben realizar al menos dos pruebas de laboratorio. Estas pruebas son:

- a. Factor Reumatoide (FR): este factor es un auto-anticuerpo dirigido a la fracción constante de la inmunoglobulina G (IgG), producido por la pérdida de la tolerancia del sistema inmune a las estructuras propias del organismo, reconociendo algunas estructuras como antígenos y desencadenando la respuesta inflamatoria. Este parámetro es positivo en algunos pacientes con

AR, sin embargo, ha demostrado tener una baja sensibilidad para determinar la progresión de la AR y poca especificidad, ya que es positivo en muchas otras enfermedades del tipo autoinmune (Mendoza, 2015).

- b. Anticuerpos Anti-Péptido Citrulinado (Anti-CCP): es el marcador más relevante y específico para determinar el diagnóstico de artritis reumatoide. La citrulinación de proteínas es producto de la acción de la enzima peptidilarginina deiminasa (PAD) sobre la arginina, en respuesta a las cuales se generan anticuerpos que reconocen como epítotope a la porción citrulinada de las proteínas, desencadenando una respuesta autoinmune inflamatoria (Olivares, 2011). Es una potente herramienta diagnóstica en AR, especialmente en aquellos cuadros de presentación temprana. La sensibilidad del examen es de 60 a 70% en etapa temprana, aumentando de 60 a 80% en pacientes con la enfermedad establecida y con una especificidad de 80 a 95%. Este parámetro no responde de manera lineal, por ende, no puede ser utilizado como biomarcador de progresión de la enfermedad.

La presencia y valor positivo de estos biomarcadores es de gran importancia diagnóstica, dado que FR y Anti-CCP, tienen un alto valor predictivo. Según algunos autores, la presencia de ambos marcadores podría ocurrir antes que la aparición clínica de la enfermedad, abriendo la potencial oportunidad de tratar la enfermedad antes de su aparición clínica (Wainstein, 2012).

### **1.1.3. Tratamiento Farmacológico de la Artritis Reumatoide.**

La terapia farmacológica es un pilar fundamental en la evolución de la AR, siendo el mecanismo de acción inmunosupresor el predominante de todos los medicamentos utilizados. La disminución de la actividad del sistema inmune permite el control de la inflamación de la membrana sinovial, reduce el dolor y disminuye las secuelas producidas por la enfermedad. El Colegio Americano de Reumatología establece que el objetivo de la terapia farmacológica es la remisión de la enfermedad y si esto no es posible, propiciar el menor grado de inflamación.

Cuando el paciente es diagnosticado con artralgias es derivado a un médico reumatólogo, quien realiza una evaluación general de salud e incluye exámenes serológicos para confirmar la enfermedad. Según la actividad clínica y la clasificación de severidad de la enfermedad se determina el tratamiento farmacológico más adecuado (Ilustración 1-2).

#### **1.1.3.1. Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad**

Los medicamentos de primera línea para el tratamiento de la artritis reumatoide son los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad o FARMES, entre los cuales se encuentran variados mecanismos de acción de carácter inmunosupresor. En la clasificación según severidad, se encuentran las formas leves, moderadas y

graves. Para las formas leves es de primera elección la Hidroxicloroquina y la Sulfasalazina, ya que son medicamentos seguros e ideales para pacientes sin daño articular y con una baja actividad de la enfermedad.

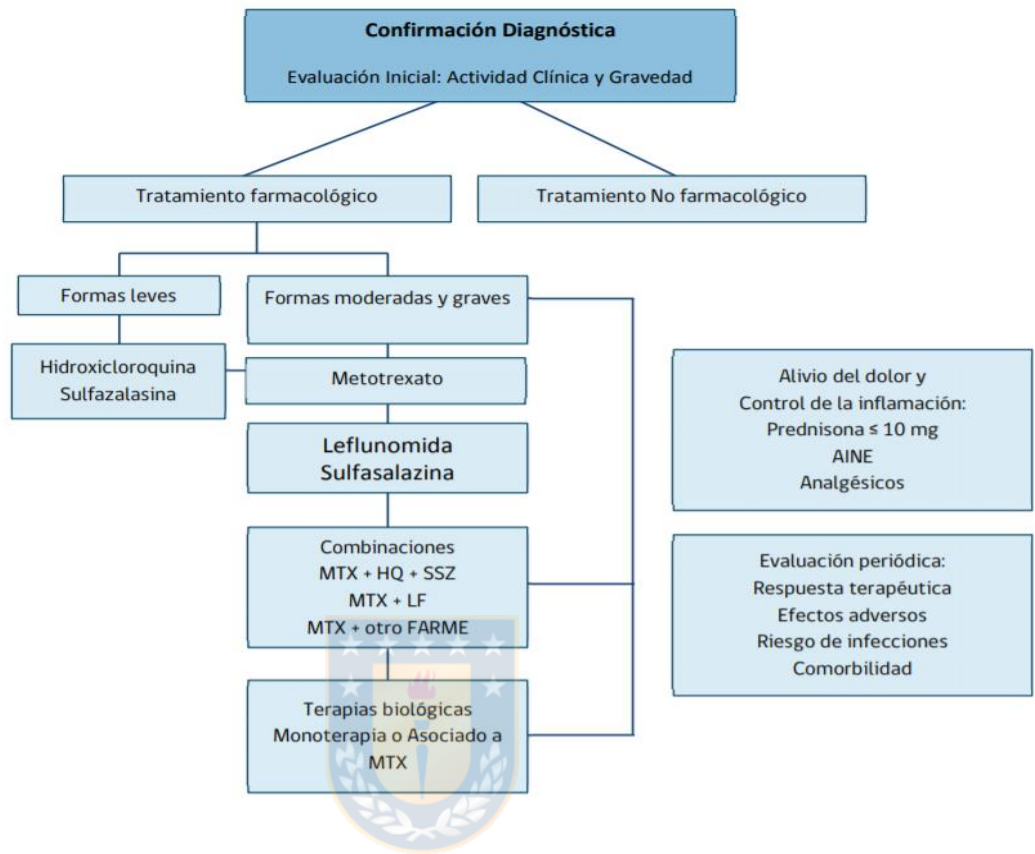
Para los pacientes con formas moderadas a graves, se recomienda como primera opción el metotrexato, medicamento que inhibe la formación de bases nitrogenadas y por consiguiente impide la replicación de ADN y posterior proliferación celular, tiene una larga trayectoria, un perfil de seguridad establecido y una elevada reputación en cuanto al control de la enfermedad. Como alternativas a la terapia con metotrexato, que puede ser descontinuada al observar efectos adversos graves o intolerancia, se encuentra la leflunomida, la azatioprina, ciclofosfamida y ciclosporina.

Cuando la terapia de primera línea es ineficaz y se han utilizado más de 3 FARMES en combinación, los pacientes con AR son candidatos para el uso de terapia biológica con anticuerpos monoclonales, incorporada en la Ley Ricarte Soto. Esta ley fue promulgada en el año 2015, para cubrir el gasto de medicamentos y pruebas de diagnóstico de alto costo, para patologías que no cubren las garantías explícitas en salud (Ley N° 20850, 2015).

#### **1.1.3.2. Terapias farmacológicas complementarias**

Como terapias complementarias se utilizan los antiinflamatorios no esteroideos y los glucocorticoides, que son utilizados en formas intermitentes y no son de elección para monoterapia. En el caso de los antiinflamatorios no esteroideos sólo son utilizados para el control de la sintomatología, de forma transitoria al inicio del diagnóstico o cuando ya hay secuelas de la enfermedad, se recomienda el uso de ellos a la menor dosis efectiva, por los efectos adversos gastrointestinales que son capaces de generar, así como el aumento del riesgo cardiovascular, ambos producidos por la disminución de la producción de prostaglandinas, que son muy importantes en los procesos de secreción de sustancias protectoras del sistema gastrointestinal y sustancias vasodilatadoras (Guía Clínica para la AR, 2014).

En el caso de los glucocorticoides, éstos son utilizados por el menor tiempo posible y en las dosis mínimas efectivas, debido a sus numerosos efectos adversos, entre ellos el más relevante para el paciente con AR es la osteoporosis, ya que estos inhiben la producción, proliferación, maduración y actividad de los osteoblastos, que son las células productoras de matriz ósea, a la vez que incrementan la apoptosis de osteoblastos maduros y osteocitos, produciendo fragilidad ósea y por consiguiente un alto riesgo de fracturas (Gutiérrez, 2003), por lo que se recomiendan sólo para controlar cuadros de inflamación exacerbada.



**Ilustración 1-2:** Flujograma del manejo terapéutico del paciente con artritis reumatoide (Guía clínica para la AR, MINSAL, 2014).

### **1.1.3.3. Pacientes refractarios a la terapia convencional**

Los pacientes con AR deben cumplir con ciertos requisitos para poder optar a la terapia con anticuerpos monoclonales, luego de ser definidos como pacientes refractarios a la terapia con FARMES. Primero, deben realizar dos controles con al menos un mes de diferencia, donde sea calculado el DAS28-VHS y en ambos controles se debe obtener un resultado mayor a 5,1. Segundo, se deben realizar estudios exhaustivos en relación a infecciones complejas, como la tuberculosis latente, virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), virus de la Hepatitis B y la evaluación de la reactivación del virus Herpes Zóster. Tercero, se debe administrar al paciente, la vacuna antineumocócica antes del inicio de la terapia biológica y según corresponda en el calendario de vacunación, la vacuna anti-influenza. Finalmente y con todos los requisitos ya cumplidos, el paciente con AR refractario a la terapia convencional con FARMES, puede postular a la Ley Ricarte Soto y por consiguiente a la terapia biológica.

Luego de la inclusión de estos pacientes en la Ley Ricarte Soto, se debe administrar el anticuerpo monoclonal por un periodo de tres meses, hasta la primera evaluación médica. Se espera que en este tiempo, el medicamento produzca algún efecto en el paciente o de lo contrario se decida si la terapia fue efectiva o no a los seis meses de tratamiento. De este modo se actúa en consecuencia y se opta por cambiar el anticuerpo o mantener la terapia actual (Protocolo 2018, MINSAL).

#### 1.1.3.4. Anticuerpos Monoclonales

En Chile, estos medicamentos están disponibles para el tratamiento de la AR activa refractaria al tratamiento habitual, entre estos, la primera línea de anticuerpos monoclonales es: Infliximab, Etanercept, Adalimumab, Golimumab, Certolizumab, Abatacept, Tocilizumab y Tofacitinib; y de segunda línea: Rituximab (Protocolo 2018, MINSAL).

Los pacientes con AR atendidos en el Policlínico de Reumatología de HGGB utilizan con mayor frecuencia tres tipos de terapias biológicas iniciales:



- a. Abatacept: es un inhibidor de la co-estimulación de la célula presentadora de antígeno al linfocito T, este paso es mediado por el receptor B7 de la célula presentadora de antígeno y el receptor CD28 del linfocito T. Abatacept es una proteína de fusión con mayor afinidad que la proteína CD28, por la proteína B7, impidiendo la presentación antigénica y a su vez inhibiendo la activación de la célula T.
- b. Etanercept: es una proteína de fusión que posee una parte de inmunoglobulina humana y una porción del receptor del factor de necrosis tumoral (TNF-a),



actuando como falso receptor de la citoquina e impidiendo que se desencadene la respuesta inflamatoria.

- c. Adalimumab: anticuerpo humano monoclonal que se une específicamente al TNF- $\alpha$  bloqueando su interacción con sus receptores celulares, inhibiendo la producción de citoquinas, reduciendo la inflamación y destrucción de tejidos.

Los pacientes refractarios a la terapia con FARMES, usuarios de terapia biológica, tienen altos índices de actividad de la enfermedad y se catalogan como pacientes descontrolados, muy propensos a desarrollar secuelas. De estos se reporta que entre un 20 y 40% de los pacientes con AR fallan a la primera terapia biológica administrada (Lara et al., 2007), que se evalúa recién a los 6 meses de tratamiento. El gasto en salud pública de una terapia inefectiva es de gran relevancia, dado el elevado costo económico de estos medicamentos; por ejemplo, la terapia anual de Rituximab tiene un valor promedio de seis millones de pesos chilenos (precios vigentes para el año 2019, CENABAST), que se traducen en pérdida de dinero en pacientes con tratamiento inefectivo. Por este motivo, describir un nuevo método de evaluación de la AR, es necesario para contrarrestar las secuelas, el gasto en salud y permitir la elección apropiada de la terapia biológica, logrando de este modo, un tratamiento más efectivo sobre el estado inflamatorio real del paciente. El seguimiento de la terapia en etapas precoces aseguraría la intercambiabilidad de la

terapia en aquellos pacientes refractarios o permitiría mantener la terapia actual en aquellos pacientes con respuesta positiva.

## **1.2. El hemograma y su utilidad en enfermedades relacionadas al sistema inmune.**

El hemograma es por excelencia el examen de rutina más común para una apreciación general de salud de los pacientes. Su utilidad en la observación de diferentes características de los componentes celulares de la sangre, lo hace una muy buena opción de seguimiento en numerosas enfermedades y ayuda a orientar al médico a solicitar exámenes complementarios que permitan agilizar el diagnóstico de una patología. La sangre periférica constituye el objeto del hemograma, análisis que reúne las mediciones, en valores absolutos y porcentuales y agrega el aspecto morfológico de las tres poblaciones celulares, leucocitos, eritrocitos y plaquetas (Torrens, 2015).

### **1.2.1. Eritrocitos**

Conocidos comúnmente como células sanguíneas rojas. Son cuantificados y caracterizados en el hemograma, donde se realiza una evaluación de los índices eritrocitarios establecidos por Wintrobe en los años 30, permitiendo indicar con

precisión cuánto mide un eritrocito promedio, su volumen, peso y concentración de hemoglobina (Panizio, 2009).

- a. VCM (Volumen Corpuscular Medio): promedio del volumen de cada eritrocito. Permite identificar macrocitosis, microcitosis o normocitosis en la muestra.
- b. HCM (Hemoglobina Corpuscular Media): representa la carga media de hemoglobina de cada eritrocito. Permite identificar normocromía e hipocromía.
- c. CHCM (Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media): representa la concentración media de hemoglobina de cada eritrocito.

La alteración más frecuente que se puede inferir al interpretar un hemograma es la anemia. El uso de los índices eritrocitarios VCM (tamaño) y CHCM (cromía), combinado con el recuento reticulocitario, permite orientar la búsqueda etiológica, clasificando la anemia como: normocítica-normocrómica, microcítica-hipocrómica, macrocítica o regenerativa. Pero también es de utilidad en la sospecha de enfermedades genéticas como la talasemia o la policitemia vera, que alteran los valores normales de eritrocitos en sangre periférica; enfermedades raras que requieren exámenes específicos para su confirmación diagnóstica, pero que son previamente identificadas ante la inquietud de un hemograma alterado.

### **1.2.2. Plaquetas**

La cuantificación de plaquetas es de gran utilidad en el diagnóstico de algunos tipos de leucemias, anemias, patologías autoinmunes y enfermedades genéticas. A la sobreproducción de éstas se le denomina trombocitosis y a la carencia trombocitopenia.

### **1.2.3. Leucocitos**

Son constituyentes del sistema inmune, responsable de la protección ante cualquier tipo de infección o molécula extraña, su acción es a través de diversos mecanismos que se activan dependiendo del tipo de patógeno y/o del tiempo de exposición ya medida que se dificulta la erradicación del antígeno, este sistema recurre a métodos más especializados y específicos para desarrollar la inmunidad. Las principales funciones del sistema inmune son, defensa contra microorganismos e inmunovigilancia contra la emergencia de tumores o de enfermedades autoinmunes, además de alergias (Toche, 2012).

En general, el sistema inmune tiene dos tipos de respuesta ante la invasión de un patógeno, las que se clasifican en respuesta inmune innata y en respuesta inmune adquirida, las que se diferencian entre sí por el tiempo, tipo de respuesta frente a un patógeno y sus principales componentes para llevar a cabo la respuesta inmune;

sin embargo, ambas actúan de manera sinérgica en el ataque contra el microorganismo, dando como resultado la respuesta inmune completa.

### **1.2.3.1. La Inmunidad Innata y sus componentes**

La inmunidad innata, también conocida como inmunidad inespecífica, es un tipo de respuesta inmune presente en el organismo desde el nacimiento, comprende una serie de mecanismos que eliminan o bloquean el paso de un agente infeccioso. Este tipo de respuesta inmunitaria actúa durante las primeras 12 horas de infección por un patógeno y corresponde a la primera línea de defensa del organismo, ya que posee mecanismos pre-existentes que se activan de manera rápida y que preceden a la Inmunidad adaptativa. Sus componentes son:



- i. Epitelio: el organismo está formado por múltiples tejidos epiteliales que cumplen la función de barrera y tienen un importante rol preventivo frente a la exposición de agentes infecciosos, el bloqueo mecánico que generan estas barreras físicas protege de agentes contaminantes la sangre, el intersticio y los órganos, y además tiene la capacidad de secretar sustancias que neutralizan e inhiben algunos agentes patógenos.
- ii. Complemento: es un complejo sistema de proteínas que circulan de forma inactiva en el plasma y tienen tres vías diferentes de activación,

la vía clásica, alterna y de las lecitinas. Sus principales mecanismos de acción son: opsonización de patógenos (ayuda al reconocimiento de las células del sistema inmune), producción de péptidos proinflamatorios (aumentan la permeabilidad de los vasos sanguíneos y facilitan la llegada de leucocitos), y activación de linfocitos (Zipfel, 2009).

- iii. Neutrófilos: son leucocitos polimorfonucleares, de origen mieloide, que cumplen la función de fagocitar agentes extraños. Poseen capacidad de adhesión a la pared endotelial, que les permite migrar al espacio extravascular a través de pseudópodos formados por proteínas de actina y miosina, permitiendo el movimiento contráctil. Una vez que los neutrófilos llegan al sitio blanco, donde se encuentra el patógeno, son capaces de fagocitarlos y destruirlos a través de dos mecanismos: uno óxido dependiente, donde el oxígeno es transformado en ión superóxido, que luego generará peróxido de hidrógeno y éste en combinación con la mieloperoxidasa, formará el ácido hipocloroso que actúa como un potente microbicida; por su parte el otro mecanismo que es oxígeno independiente, tiene su efecto por acción de agentes antimicrobianos como la elastasa y la metaloproteinasa, encargadas de generar el efecto microbicida (Barbieri et al., 2005).

- iv. *Natural Killer* (Células NK): son células de origen linfoide que tienen un importante papel en la lisis de células tumorales y de células infectadas por virus, además, son potentes productoras de moduladores de la respuesta inmune (citoquinas y quimioquinas), entre las que encontramos al interferón gamma (IFN-g) y al TNF-a (Afani et al, 2006).
  
- v. Macrófagos: maduran desde los monocitos y se pueden diferenciar en células dendríticas. Tienen actividad fagocítica limitada y juegan un papel crucial al conjugar el sistema inmune innato con el adquirido, actuando como célula presentadora de antígenos. Además, participan en la degradación de antígenos, lisis bacteriana y secreción de citoquinas (Toche, 2012).
  
- vi. Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs): son receptores celulares, estructuras o patrones moleculares que permiten la diferenciación del microorganismo por las células del sistema inmune, permitiendo su reconocimiento. Entre ellos se encuentran: los del tipo Toll, *scavenger* y lectinas tipo C (Vega, 2008).

- vii. Citoquinas: también denominadas interleuquinas (IL), son moléculas de origen proteico, secretadas por los leucocitos en respuesta a microorganismos y otros antígenos. Las citoquinas estimulan el crecimiento y diferenciación de los linfocitos y monocitos (Kunkel y Butcher, 2002). Actúan en diferentes células y diferentes citoquinas producen el mismo efecto, teniendo un efecto sinérgico en la respuesta inmune. En la actualidad poseen una gran importancia como blanco terapéutico para el tratamiento de diversas enfermedades inflamatorias del tipo autoinmune.



### **1.2.3.2. La Inmunidad adaptativa y sus componentes**

La inmunidad adaptativa, también conocida como inmunidad específica o adquirida. Corresponde a la respuesta del organismo frente a una infección, que ha sido adquirida y/o aprendida con el tiempo. Cuando la inmunidad innata no es capaz de controlar un cuadro infeccioso, se recurre a células especializadas que trabajan en conjunto para erradicar el agente infeccioso; éstas, luego de un primer encuentro, generan memoria inmunológica en el sistema inmune adaptativo, permitiendo reconocer oportunamente una nueva infección por el mismo agente, atacándolo de forma rápida y efectiva, por lo que, gracias a la capacidad de los linfocitos de expresar receptores a los diferentes antígenos, se hace posible reconocer la totalidad de antígenos existentes. Los receptores involucrados son receptores de



linfocitos T (TCR) y receptores de linfocitos B (BCR) (Toche, 2012). Se destaca además, que este sistema tiene dos componentes generales, uno celular y el otro humoral:

#### **1.2.3.2.1. Celular**

a. Células presentadoras de antígeno (APC): son células dendríticas o macrófagos, que cumplen el rol de presentar el antígeno asociado al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) al linfocito T. El antígeno de origen proteico puede ser presentado en su forma lineal (péptido) por el HLA de clase I al linfocito T citotóxico o por el HLA de clase II al linfocito T *helper* (TH). El linfocito B es capaz de reconocer directamente al antígeno en su forma lineal o conformacional. (Gallastegui et al., 2002)

b. Linfocitos T: existen dos tipos de linfocitos T, que poseen diferentes funciones en el desarrollo de la inmunidad adaptativa.

i. Los linfocitos T helper, también conocidos como CD4+ por su marcador de superficie (CD), tienen un rol protagónico en la secreción de citoquinas, por lo que se han clasificado según el tipo de citoquina predominante que secretan, lo que determina el tipo de funciones efectoras de los linfocitos. Dentro de estos, tenemos:

- TH 1: se diferencian en presencia de IL-12 y se encuentran principalmente en infecciones por bacterias intracelulares, virus y algunos parásitos.
  - TH 2: se diferencian en presencia de IL-4, frente a la exposición de alérgenos y algunos helmintos, induciendo la producción de IL-5, que ayuda al reclutamiento y maduración de eosinófilos. Por otra parte, inducen la diferenciación de la linfocito B a célula plasmática para la producción de Inmunoglobulina E (IgE).
- ii. Los linfocitos T citotóxicos, también conocidos como CD8+ por su marcador de superficie (CD), cumplen el rol de destruir antígenos específicos, lisar células infectadas y tumorales.
- c. Linfocitos B: son células que cumplen variadas funciones, entre las que destaca la diferenciación a célula plasmática para la producción de anticuerpos. Estos linfocitos tienen un rol activo en el reconocimiento de antígenos a través del BCR y en casos especiales también puede tomar el rol de APC (Rincón et al., 2017).

### 1.2.3.2.2. Humoral

a. Anticuerpos: también denominadas inmunoglobulinas (Ig), son sintetizados por las células plasmáticas y tienen dos fracciones principales: la fracción constante y la fracción variable. La primera es la responsable de la unión a macrófagos para ayudar al reconocimiento del antígeno, mientras que la segunda es específica para el reconocimiento del epítipo, donde se encuentra una región denominada hipervariable con una secuencia de aminoácidos específica para el reconocimiento. Son funciones principales de los anticuerpos, activar al Complemento, mediar funciones de las células NK y macrófagos y opsonizar el antígeno para facilitar el reconocimiento por las células del sistema inmune. Son cinco clases de inmunoglobulinas que difieren en su estructura y función, las cuales son: IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE.

El hemograma permite evaluar los estados inflamatorios a través de las células que componen el sistema inmunológico, desde los puntos de vista fenotípicos y funcionales, se realiza un recuento de leucocitos totales y el recuento diferencial de los leucocitos circulantes en sangre periférica. El recuento diferencial implica cuantificar las series hematopoyéticas granulocíticas polimorfonucleares, donde se encuentran basófilos, eosinófilos y neutrófilos, y la serie linfocítico mononuclear, que agrupa a linfocitos y monocitos. La proporción de cada una de estas series en sangre periférica responde a diversos estímulos y estados fisiológicos y patológicos

del individuo, que puede ser informada como porcentaje respecto a la totalidad o valor absoluto de leucocitos circulantes, que corresponde a la cantidad de células en una unidad de volumen.

El porcentaje normal para el recuento diferencial es para neutrófilos entre 40% y 70%, para linfocitos entre 25% y 40%, para monocitos entre 2% y 8%, para eosinófilos entre 0 y 5% y para basófilos entre 0 y 1% (Blumenreich, 1990).

Respecto de los valores absolutos, éstos tienen un amplio rango de valores en estado fisiológico y son útiles para el diagnóstico de enfermedades carenciales o de sobreproducción de estas células. Los neutrófilos se encuentran entre 1.500 y 6.000, los linfocitos entre 1.000 y 4.500, los monocitos entre 100 y 700, los eosinófilos entre 50 y 450 y finalmente los basófilos entre 1 y 75 unidades por uL de sangre (Retamales, 2013).

Un valor menor al de referencia se denomina leucopenia, respecto de los neutrófilos, por ejemplo, puede ser característica la neutropenia en algunos tipos de enfermedades como el VIH, hepatitis, y tratamientos farmacológicos con inmunosupresores o con medicamentos antiepilépticos. En cambio, un valor mayor al intervalo de referencia está relacionado generalmente a procesos infecciosos. En el caso de la neutrofilia, se relaciona a la presencia de bacterias; mientras que al

hablar de eosinofilia se asocia al cuadro clínico de alergias o infección por parásitos, así como la linfocitosis se relaciona a la presencia de infecciones del tipo virales.

Los dos tipos de leucocitos de mayor abundancia en sangre periférica son los neutrófilos y los linfocitos, ambos, han sido muy estudiados por sus alteraciones en diferentes estados patológicos jugando un importante rol en diferentes procesos de infección e inflamación.

Desde la década del 70 se han investigado nuevas relaciones entre parámetros hematológicos, utilizando componentes de sangre periférica, los cuales son fácilmente cuantificables a través del hemograma. La primera en ser estudiada fue la Relación Neutrófilo/Linfocito (Ishchenko, 1977), que ha demostrado utilidad como indicador de inflamación en diferentes patologías, por lo que se determinó como tema a investigar en pacientes con AR; otras más recientes son la Relación Plaqueta/Linfocito y Monocito/Linfocito (Lee et al., 2018)

### **1.3. La Relación Neutrófilo/Linfocito.**

En general, en un cuadro inflamatorio, el organismo trata de eliminar una injuria, lo que aumenta la inmunidad innata (neutrófilos) y disminuye la inmunidad adaptativa (linfocitos), manteniendo la respuesta inflamatoria (Templeton et al., 2014). Luego, la relación que se propone evaluar en respuesta a la condición patológica del

paciente es la relación Neutrófilo/Linfocito (NLR, por sus siglas en inglés), identificada como un marcador de inflamación.

En cuanto al análisis según la población, se realizó un estudio en Estados Unidos que evaluó la NLR en 9000 individuos de población general, Los resultados indicaron diferencias raciales entre sujetos negros no hispanos, hispanos y blancos no hispanos, con un valor de NLR promedio de 1.76, 2.08 y 2.24, respectivamente, teniendo los blancos no hispanos un valor de NLR significativamente mayor que las otras dos etnias. Además, se investigó el valor de NLR según tabaquismo, índice de masa corporal y diabetes, y se obtuvo que en estos grupos la NLR era más alta en pacientes con algún riesgo cardiovascular (Azab et al., 2014). Por otra parte, un estudio realizado en Corea del Sur estimó que el valor promedio para la relación Neutrófilo/Linfocito en sujetos controles, es de 1.63 para mujeres y 1.66 para hombres (Lee et al., 2018). De los estudios anteriores, se observa una clara diferencia entre etnias, por lo que se hace complejo establecer un valor de referencia general, haciéndose necesario un análisis poblacional localizado, para determinar valores de NLR que permitan identificar la presencia de la inflamación en la población chilena.

La NLR también ha sido investigada en diferentes tipos de cáncer, como el linfoma difuso positivo de células B, en el que se concluyó que los pacientes con un valor superior a 5, tienen una menor sobrevida (Beltrán et al., 2015). Además, el único

estudio realizado en Chile analizó la relación en pacientes con cáncer de mamas, de dos subtipos HER+ y sin expresión de HER, y en el cual se observó que un valor superior a 4 se asociaba a peor sobrevida en todos los subgrupos, sitios y etapas de la enfermedad (Mimica et al., 2016). En otras patologías como la diabetes, se demostró los valores de NLR en población turca eran significativamente más altos en los grupos de insulino resistentes que era de 1.60, en diabéticos diagnosticados por primera vez 1.58 y en diabéticos diagnosticados (no recientemente) era de 2.07, en comparación con el grupo control que presentó un valor de NLR de 1.37 (Mertoglu y Gunay, 2017).



La NLR se ha estudiado en pacientes con AR y se ha identificado como un buen biomarcador de inflamación. Un estudio realizado en Turquía en el año 2015, que evaluó la NLR en pacientes con AR y espondilitis anquilosante y reclutó a 136 y 140 pacientes, respectivamente. El recuento de neutrófilos y NLR fueron significativamente mayores en el grupo con AR. Además, la NLR fue mayor en los grupos con una alta actividad DAS28-PCR, en comparación con pacientes en remisión que tuvieron un valor promedio de  $2.1 \pm 1.0$  y en los pacientes con actividad baja-moderada que fue de  $2.5 \pm 1.0$ , ya que los pacientes con alta actividad de la enfermedad tuvieron un valor promedio de  $3.8 \pm 2.5$  (Ridvan et al., 2015).

La NLR se ha estudiado en pacientes con AR y se ha identificado como un buen biomarcador de inflamación. Un estudio realizado en Turquía en el año 2015 que evaluó la NLR en pacientes con AR y espondilitis anquilosante, reclutó a 136 y 140 pacientes, respectivamente. El recuento de neutrófilos y NLR fueron significativamente mayores en el grupo de AR. Además, la NLR fue mayor en los grupos de con una alta actividad DAS28-PCR,  $2.1 \pm 1.0$  en comparación con pacientes en remisión,  $2.5 \pm 1.0$  en actividad baja-moderada y  $3.8 \pm 2.5$  en pacientes con alta actividad de la enfermedad (Ridvan et al., 2015).

Además la NLR ha sido propuesta como un buen predictor de la eficacia de las diferentes terapias biológicas para la AR, ya que esta relación disminuyó en forma gradual en una población japonesa con un promedio de NLR de 5.9 a un 4.5 a los seis meses de tratamiento con Infliximab, Etanercept, Adalimumab y Tocilizumab; el único tratamiento que no produjo una disminución significativa de NLR a los seis meses fue Abatacept. También se observó que la NLR fue significativamente mayor en pacientes con alta actividad de la enfermedad (Koiwa et al., 2016).

Adicionalmente a las investigaciones anteriores, en Corea del Sur se realizó un análisis retrospectivo de cohorte, en un grupo de 82 pacientes tratados con terapia biológica, con mecanismo de acción exclusivo anti-TNF $\alpha$ , y se comparó con un grupo de 246 sujetos controles. Los resultados mostraron una media de NLR correspondiente a 3.44 y 1.73 respectivamente, considerándolo significativamente



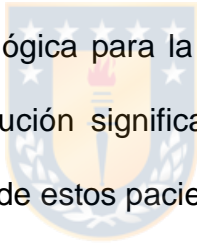
más alto en pacientes con AR. Este mismo estudio analizó la variación del DAS28-PCR y la NLR a las 12 y 24 semanas de tratamiento y se observó que a las 12 semanas los pacientes con una NLR más baja presentan una mejor respuesta al tratamiento que aquellos con una NLR más alta; sin embargo, el análisis a las 24 semanas no tuvo resultados significativos (Lee et al., 2019).

En la India, se llevó a cabo un estudio de dos fases de reclutamiento con un total de 489 pacientes, y cuyos resultados evidenciaron que los pacientes con una NLR menor a 1.4 podían ser clasificados como pacientes en remisión de la enfermedad con un 90% de especificidad y no encontraron diferencias significativas entre edad y género. También correlacionaron las variables del DAS28-PCR con la NLR, encontrando una correlación positiva y significativa con: EVA, articulaciones inflamadas, PCR, VHS y DAS28-PCR. Ellos finalmente concluyeron que la NLR es un marcador de inflamación eficaz, comparable con PCR y no se ve afectada por citoquinas como la PCR y VHS (Chandrashekara et al., 2017).

Finalmente, el estudio más reciente en pacientes con AR se realizó en usuarios de terapia convencional, en Australia, en diciembre del 2019, y en el cual se evaluó la NLR a 222 pacientes con AR recientemente diagnosticada y sin tratamiento previo. La triple terapia fue estandarizada con metotrexato, sulfasalazina e hidroxicloroquina. Los resultados mostraron que los pacientes con AR que fallaron a la triple terapia tuvieron una NLR significativamente mayor (3.7) que el grupo que

respondió a triple terapia convencional (2.8). Los autores determinaron que la NLR fue más sensible que el DAS28-VHS para predecir ineffectividad a la triple terapia (Boulos et al., 2019).

En virtud de lo expuesto y conociendo que en Chile habían 3255 pacientes a diciembre del año 2018, usuarios de terapia biológica para la artritis reumatoide y donde la región de Bío-Bío es la segunda región con más pacientes afectados con un total de 479 pacientes (Informe beneficiarios Ley Ricarte Soto, 2018), es de vital importancia establecer si el NLR puede ser de utilidad en el seguimiento de la efectividad de la terapia biológica para la AR refractaria a FARMES ya que esto puede significar una disminución significativa en los costos de salud pública y mejora de la calidad de vida de estos pacientes.



## 2. HIPÓTESIS

Los pacientes con Artritis Reumatoide sometidos a terapia biológica efectiva presentan una disminución de la relación neutrófilo/linfocito durante tratamiento biológico de 6 meses.




### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general**

Evaluar los cambios de la relación neutrófilo/linfocito en pacientes con Artritis Reumatoide durante tratamiento biológico efectivo de 6 meses.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- 
- a. Describir la relación neutrófilo/linfocito en un grupo piloto de pacientes con artritis reumatoide y sujetos controles.
  - b. Determinar la relación neutrófilo/linfocito desde la base de datos de pacientes con artritis reumatoide en todos los tiempos de terapia biológica y evaluar asociación con DAS28-VHS, VHS, articulaciones dolorosas, articulaciones inflamadas, EVA, Anti-CCP y Factor Reumatoide.
  - c. Comparar los valores de relación neutrófilo/linfocito desde la base de datos de pacientes con artritis reumatoide antes y después de la terapia biológica a los 3 meses y 6 meses y según su clasificación de DAS28-VHS.

## **4. MATERIALES Y MÉTODO**

### **4.1. Caracterización de la NLR en pacientes con AR y sujetos controles**

#### **4.1.1. Descripción del estudio**

Este estudio fue de corte, observacional descriptivo, considerando los pacientes con AR reclutados en el estudio “Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340” y sujetos controles reclutados en el laboratorio Prevegen.



#### **4.1.2. Reclutamiento de participantes**

Se reclutaron 11 pacientes con Artritis Reumatoide del Policlínico de Reumatología del HGGB, quienes firmaron un consentimiento informado, en el contexto del proyecto “Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340”, presentado por la investigadora Liliana Lamperti de la Universidad de Concepción, aprobado en el mes de septiembre del año 2017 por el Comité Ético Científico (CEC) del Servicio de Salud Concepción. Los pacientes consentidos (anexo 1), fueron citados al Laboratorio Prevegen, ubicado en Chacabuco 556 (Concepción), para la extracción de la muestra de sangre. Los

sujetos controles fueron reclutados según sexo y edad, para parear con los pacientes de estudio que se presentaron el mismo día, firmando previamente el consentimiento informado del laboratorio Prevegen (Anexo 2).

#### **4.1.3. Toma de muestra**

A los participantes se les extrajo una muestra de sangre periférica, por punción venosa, en un tubo con EDTA de 5 mL. Luego se acondicionó en un soporte de estabilidad (contenedor secundario) y se transportó en un contenedor terciario aislado (hielera), hacia la Universidad de Concepción, donde se procedió a realizar el análisis de muestra a través de un hemograma.

#### **4.1.4. Análisis de muestra**

A las muestras de sangre periférica de los pacientes con AR y sujetos controles, se les realizó un hemograma. Este fue llevado a cabo dentro de las 2 horas de la toma de muestra y con la sangre a temperatura ambiente. El hemograma fue realizado en el equipo Sysmex XS-1000i del Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología de la Facultad de Farmacia, de la Universidad de Concepción. Los resultados obtenidos fueron tabulados en una hoja de cálculo Excel (Anexo 3).

#### **4.1.5. Cálculo de la Relación Neutrófilo/Linfocito**

De los resultados obtenidos a través del hemograma se recogieron valores absolutos de neutrófilos y linfocitos, de estos se calculó el cociente de relación, donde se consideró como dividendo el valor absoluto de neutrófilos y como divisor el valor absoluto de linfocitos. El resultado se expresó indicando dos cifras significativas.

#### **4.1.6. Obtención del DAS28-VHS de los pacientes con Artritis Reumatoide**

Se observaron en la ficha clínica, que fue elaborada en el proyecto: “Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340”, los valores de DAS28-VHS y de VHS más recientes, considerando dos cifras significativas.

#### **4.1.7. Tratamiento de datos**

Se calculó el promedio de NLR en pacientes con AR y sujetos controles, a partir de éstos se realizó una comparación entre los valores promedios de ambos grupos.

Se clasificaron además los pacientes según criterios de actividad de la enfermedad, referentes a la actualización correspondiente al año 2014 de la EULAR (Smolen, 2014). Estos criterios evalúan el grado de actividad según los valores de DAS28-

VHS, de forma que valores mayores a 5.1 indican actividad alta, valores entre 3.2 y 5.1 actividad moderada, valores menores a 3.2 actividad baja y valores menores a 2.6 como enfermedad en remisión; luego se calculó la media de NLR por cada grupo y se compararon los resultados.

Finalmente se correlacionó el valor de NLR con DAS28-VHS y VHS, para observar el signo de la correlación.

#### **4.1.8. Análisis estadístico**



Se realizó el análisis estadístico a través del software GraphPad Prism versión 8.3.0 (GraphPad Software Inc). La comparación entre grupos de los pacientes y los controles fue realizada mediante test no paramétricos, aplicando test de Wilcoxon y el análisis entre grupos de actividad de la enfermedad se realizó con el test ANOVA y Tukey. Respecto de la correlación entre las variables numéricas, esta se realizó por medio del test de Spearman y se utilizó un nivel de significancia del 0.05.

## **4.2. Caracterización de la NLR en pacientes con AR en terapia biológica**

### **4.2.1. Descripción del estudio**



Este estudio fue de tipo descriptivo observacional retrospectivo, considerando los datos anonimizados de la ficha clínica y de la Plataforma Ley Ricarte Soto, de los pacientes que recibieron terapia biológica para Artritis Reumatoide refractaria, por al menos 6 meses desde el año 2014 al año 2019.

#### **4.2.2. Obtención de datos**

Se presentó al CEC del Servicio de Salud de Concepción el proyecto de investigación, en agosto de 2019. Esta propuesta fue realizada entre los meses de mayo y agosto del año 2019, donde se precisó una revisión bibliográfica exhaustiva para actualizar la línea base investigativa, una descripción de la metodología para detallar correctamente los pasos a seguir para el tratamiento de datos correspondientes, una declaración de los recursos necesarios para llevar a cabo el proyecto en la Universidad y además en el HGGB. También se requirió exponer los resultados esperados y una explicación de cómo beneficiaría a los pacientes con AR esta investigación.

Se realizó una carta de colaboradores y asignación de funciones, además todos los integrantes del equipo de investigación firmaron las declaraciones de buenas prácticas clínicas y el compromiso de confidencialidad frente al estudio. El equipo de investigación fue conformado por los investigadores adjuntos a la Tabla 4-1:

**Tabla 4-1:** Asignación de funciones del equipo de investigación.

Función	Nombre Investigador
Investigador Responsable	Dra. Liliana Lamperti Fernández
Investigador Alterno	Dra. Estefanía Nova Lamperti
Investigador Clínico	Dra. Irene Castro Esparza
Investigador Colaborador	Lic QF. Belén Cáceres Guerrero
Investigador Colaborador	Dra. Valeska Ormazábal Valladares


Se solicitó al CEC la exención de consentimiento informado, para lo cual fue necesario presentar una carta elaborada por la jefa del Policlínico de Reumatología Dra. Irene Castro, con la finalidad de garantizar la confidencialidad de los datos. Estos datos fueron recolectados por la enfermera Camila Ramírez, profesional a cargo del Policlínico de Reumatología, elaborando así una base de datos anonimizados (Anexo 3). La propuesta fue aprobada en el mes de septiembre del año 2019 (Anexo 4).

#### **4.2.3. Criterios de selección de pacientes**

La población en estudio comprendió a 91 pacientes con AR atendidos en el Policlínico de Reumatología del HGGB de Concepción, que cursaban tratamiento con terapia biológica en el contexto de la Ley Ricarte Soto.

#### **4.2.4. Criterios de Inclusión**

Los pacientes incluidos en el estudio cumplieron los siguientes requisitos:

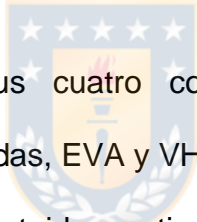
- 
- a. Adultos desde 18 años atendidos en el HGGB de Concepción.
  - b. Usuarios de Etanercept, Adalimumab o Abatacept.
  - c. Al menos 6 meses en tratamiento.
  - d. Comienzo de terapia biológica desde el año 2014.
  - e. Postulación a Ley Ricarte Soto realizada en el HGGB de Concepción.

#### **4.2.5. Criterios de Exclusión**

Se excluyó a pacientes que, a pesar de cumplir el requisito mínimo de 6 meses en tratamiento, no contaban con los respectivos DAS28-VHS y datos del hemograma en las fechas solicitadas.

#### **4.2.6. Datos solicitados**

Los datos solicitados se obtuvieron a partir de los 91 pacientes con AR en terapia biológica, que abarcan el periodo de tiempo desde el año 2014 hasta el año 2019. La información fue recopilada por cada paciente individualmente y fue necesario considerar el control previo al inicio de la terapia biológica y además, las evaluaciones al primer y segundo control después de iniciada la terapia. La recopilación de datos incluyó:

- 
- a. DAS28-VHS: con sus cuatro componentes, articulaciones dolorosas, articulaciones inflamadas, EVA y VHS.
  - b. Serología: factor reumatoide y anticuerpos Anti-Péptido Citrulinado.
  - c. Hemograma: valor absoluto de neutrófilos y linfocitos.
  - d. Terapia Biológica: nombre y fecha de inicio.
  - e. Año de diagnóstico de AR.

#### **4.2.7. Tratamiento de datos**

Los datos fueron agrupados en hojas de cálculo de Microsoft Office Excel 2010, donde a cada paciente se le otorgó un código TBAR-00X que hace referencia a la “Terapia Biológica Artritis Reumatoide” acompañado del número de paciente del cual se trata. Por cada paciente se confeccionó una planilla detallada con

características acerca de serología, terapia biológica y fecha de inicio de esta, además de los valores de DAS28-VHS con sus respectivas variables, valores absolutos de neutrófilos y linfocitos en cada fecha determinada; antes de iniciada la terapia, al primer control y al segundo control posterior al inicio de la terapia biológica. Para el cálculo de la NLR, se utilizaron los valores absolutos de Neutrófilos y linfocitos.

Se caracterizaron los 91 pacientes según género y serología como FR positivo o negativo, Anti-CCP positivo o negativo y también se calculó el promedio de edad según género del total de los pacientes.

Después, se confeccionó una planilla general que recopiló los datos de forma individual, independiente de la secuencia de fechas, para obtener la NLR. La base de datos resultante concluyó un total de 316 mediciones de DAS28-VHS, sus variables y valor de NLR calculado en el mismo control. Incluyó además información respecto del resultado del FR y el Anti-CCP. Además, se clasificaron en relación a los criterios de actividad de la enfermedad, con la actualización correspondiente de la EULAR 2014 (Smolen, 2016), que corresponden a los valores de DAS28-VHS según actividad alta, moderada, baja o en remisión.

#### **4.2.8. Análisis estadístico**

Se realizó a través del software GraphPad Prism versión 8.3.0 (GraphPad Software Inc). Se correlacionaron las variables numéricas a través del test de Spearman y se utilizó un nivel de significancia del 0,05.

Se correlacionaron con NLR:

- DAS28-VHS
- Articulaciones dolorosas
- Articulaciones inflamadas
- Evaluación general de salud
- Velocidad de eritrosedimentación globular

Luego se clasificaron los datos según serología, para realizar las correlaciones de NLR con DAS28-VHS en pacientes con:

- Factor Reumatoide Positivo
- Factor Reumatoide Negativo
- Anticuerpos Antipéptido Citrulinado Positivo
- Anticuerpos Antipéptido Citrulinado Negativo

Finalmente se calcularon los promedios de NLR con sus respectivas desviaciones estándar, en los grupos de pacientes clasificados según la actividad de la enfermedad. El promedio de articulaciones dolorosas, articulaciones inflamadas,

EVA, VHS y DAS28-VHS y por último el promedio de NLR y DAS28-VHS según serología.

### **4.3. Caracterización de la NLR según terapia biológica**

#### **4.3.1. Selección de muestra de pacientes**

De los 91 pacientes en estudio, sólo 41 contaban con el DAS28-VHS dentro de las tres fechas solicitadas; la primera fecha antes del inicio de la terapia biológica, la segunda en el primer control de la terapia y la tercera para el segundo control de la terapia. Además para este objetivo sólo se consideraron estos pacientes, dado que se encontraban en tratamiento farmacológico con Abatacept, Etanercept o Adalimumab.

#### **4.3.2. Tratamiento de datos**

Se realizó una clasificación de pacientes, según las tres terapias farmacológicas y según su valor de DAS28-VHS y se les agrupó según efectividad de la terapia, considerando un valor mayor a 5,1 como terapia refractaria y menor a este valor como terapia efectiva.

#### **4.3.3. Análisis estadístico**

Se realizó por el software GraphPad Prism versión 8.3.0 (GraphPad Software Inc). Se evaluó la variación del valor de NLR antes del inicio de la terapia biológica, al primer control y al segundo control después de iniciada la terapia biológica. Para el análisis según terapia biológica se utilizó el test ANOVA y como prueba de comparación entre grupos se realizó el test de Tukey para las tres fechas de datos. Se utilizó un nivel de significancia de 0,05.





## **5. RESULTADOS**

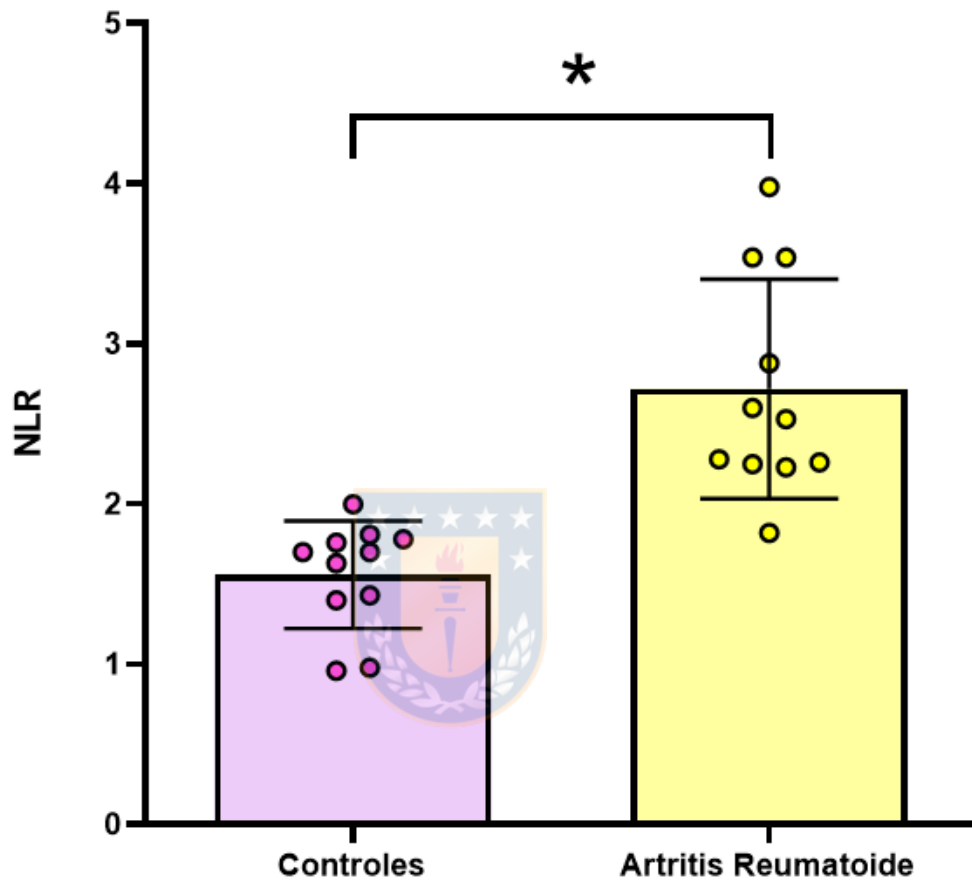
### **5.1. Caracterización de la NLR en pacientes con AR y sujetos controles**

#### **5.1.1. Caracterización de participantes**

Se reclutaron once pacientes con AR del Policlínico de Reumatología del HGGB, nueve mujeres y dos hombres, la edad promedio fue de  $53\pm 16$  años. Los sujetos controles también fueron once, nueve mujeres y dos hombres, con una edad promedio de  $53\pm 11$  años. Ambos grupos tuvieron la misma cantidad de participantes de género masculino y género femenino, y un promedio de edad similar, que da cumplimiento a la condición de que los pacientes y los controles fueran del mismo género y de edades similares.

#### **5.1.2. Determinación de la Relación Neutrófilo/Linfocito**

Para el grupo de individuos control, el promedio de la NLR fue de:  $1.53\pm 0.38$  y para el grupo de pacientes con AR el promedio fue de  $2.72\pm 0.68$ , siendo más alto en pacientes con AR, que en el grupo control, con un  $p=0.0010$  (Ilustración 5-1).



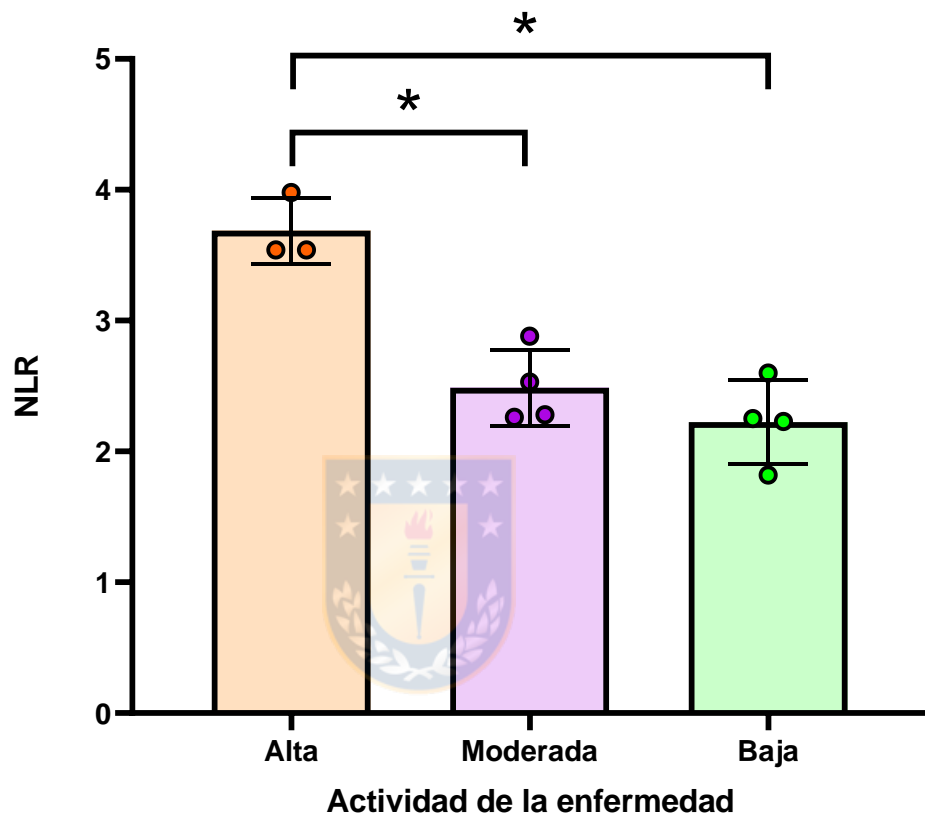
P: 0.0001

**Ilustración 5-1:** Determinación de la Relación Neutrófilo/Linfocito en individuos control y pacientes con AR. Promedio de la NLR para muestra de 11 sujetos controles y 11 pacientes con Artritis reumatoide. Realizado con test T y Wilcoxon.

### **5.1.3. Comparación entre grupos según actividad de la enfermedad**

Para la clasificación de la actividad de la enfermedad de acuerdo a DAS28-VHS, el valor de NLR fue  $2.23 \pm 0.32$  para actividad baja,  $2.49 \pm 0.29$  para actividad moderada y significativamente mayor con un valor de  $3.69 \pm 0.25$  para actividad alta (Ilustración 5-2) (Tabla 5-1).





**P: 0.0005**

**Ilustración 5-2:** NLR en pacientes con AR según actividad de la enfermedad. Relación Neutrófilo Linfocito (NLR) para muestra de pacientes con Artritis reumatoide en Actividad: Baja (barra naranja), Moderada (barra violeta) y Alta (barra verde). Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.

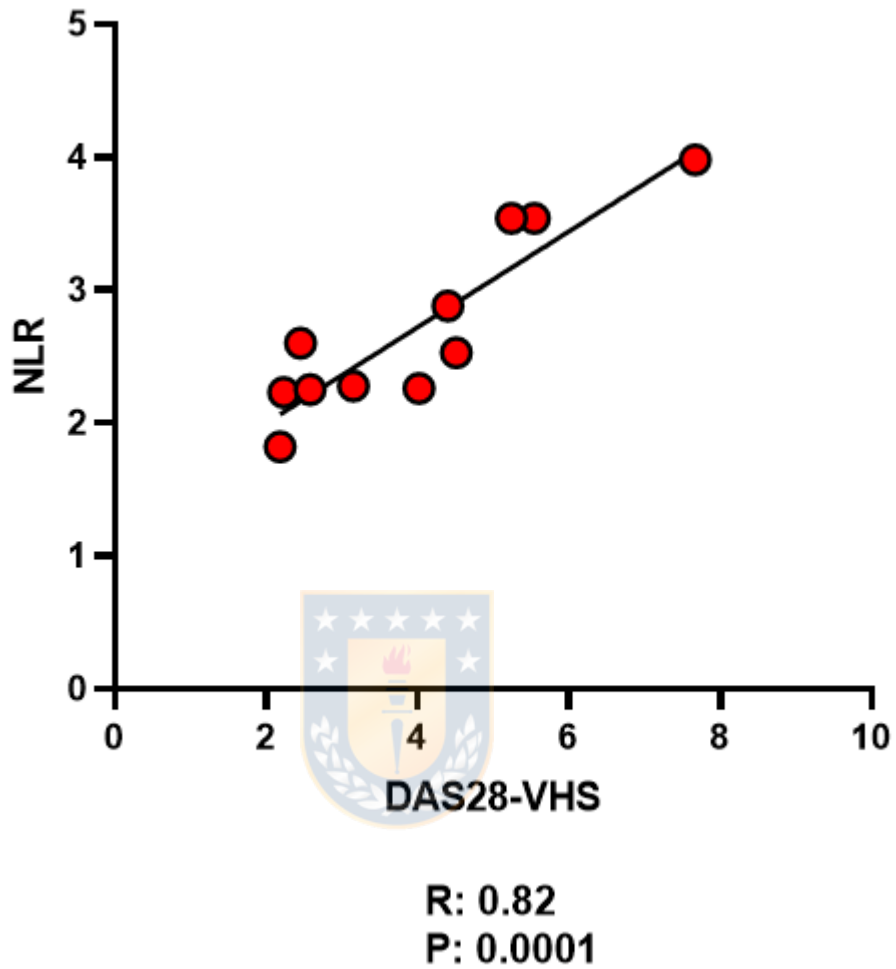
**Tabla 5-1:** Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de actividad de la enfermedad para pacientes con AR.

<b>Comparación</b>	<b>P Value</b>	<b>Significancia</b>	<b>Diferencia entre los grupos</b>
<b>Alta vs Moderada</b>	0.0017	Sí	1.199
<b>Alta vs Baja</b>	0.0005	Sí	1.462
<b>Moderada vs Baja</b>	0.4498	No	0.2625

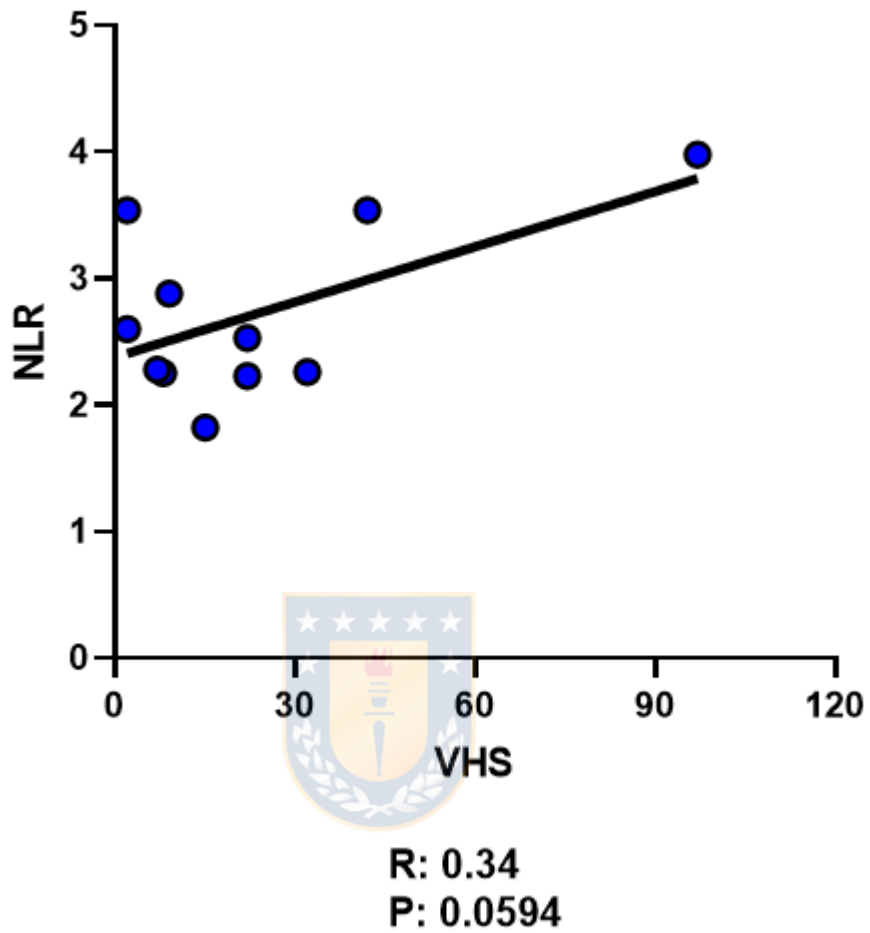
#### 5.1.4. Correlaciones con la NLR

Posterior al análisis según la actividad de la enfermedad, se correlacionó la NLR con DAS28-VHS y VHS. Los resultados mostraron que ambas correlaciones fueron positivas, resultando de la correlación de NLR con DAS28-VHS un coeficiente de 0.82 y un  $p=0.0594$  (Ilustración 5-3) y NLR con VHS un coeficiente de correlación de 0.34, con un  $p=0.0001$  (Ilustración 5-4).





**Ilustración 5-3:** Correlación de NLR versus DAS28-VHS. Correlación entre NLR y DAS28-VHS para 11 pacientes con Artritis reumatoide.



**Ilustración 5-4:** Correlación de NLR versus VHS. Correlación de la NLR versus VHS, para 11 pacientes con Artritis reumatoide.



## **5.2. Caracterización de la NLR en pacientes con AR en terapia biológica**

### **5.2.1. Caracterización de los pacientes con Artritis Reumatoide en terapia biológica**

De los 91 pacientes incluidos en esta investigación, 86 correspondían a mujeres y sólo 5 a hombres, cuyas edades promedio fueron:  $52\pm 11$  y  $52\pm 17$  años, respectivamente. Un total de 65 pacientes presentaron FR positivo y 16 FR negativo y con respecto a los Anti-CCP, 73 fueron positivos y 18 negativos.

En cuanto a la terapia biológica inicial, un total de 37 (40.7%) pacientes fueron usuarios de Abatacept, 32 (35.2%) de Adalimumab y 22 (24.2%) de Etanercept.

### **5.2.2. Promedios de las variables**

Se registró en una planilla Excel el valor promedio de NLR, número de articulaciones dolorosas y articulaciones inflamadas, EVA, VHS y DAS28-VHS obtenidos en los 316 controles médicos de los 91 pacientes con AR con terapia biológica (Tabla 5-2):

**Tabla 5-2:** Valores promedio para los 316 controles médicos, de 91 pacientes con AR con terapia biológica.

	<b>NLR</b>	<b>Art. Dolorosas</b>	<b>Art. Inflamadas</b>	<b>EVA</b>	<b>VHS</b>	<b>DAS28-VHS</b>
<b>Promedio</b>	2.43	9.60	7.74	58.73	22.14	4.92
<b>Desviación estándar</b>	1.55	7.42	6.53	27.18	18.79	1.72

Al clasificar a los 91 pacientes con terapia biológica de acuerdo a la serología positiva o negativa de FR (Tabla 5-3) y Anti-CCP (Tabla 5-4), se calcularon los valores promedios de NLR y DAS28-VHS.

**Tabla 5-3:** Valores promedio de NLR y DAS28-VHS para 91 pacientes en terapia biológica, según Factor Reumatoide.

	FR Positivo		FR Negativo	
	DAS28-VHS	NLR	DAS28-VHS	NLR
Promedio	4.98	2.70	4.75	1.68
Desviación Estándar	1.73	1.61	1.73	0.71



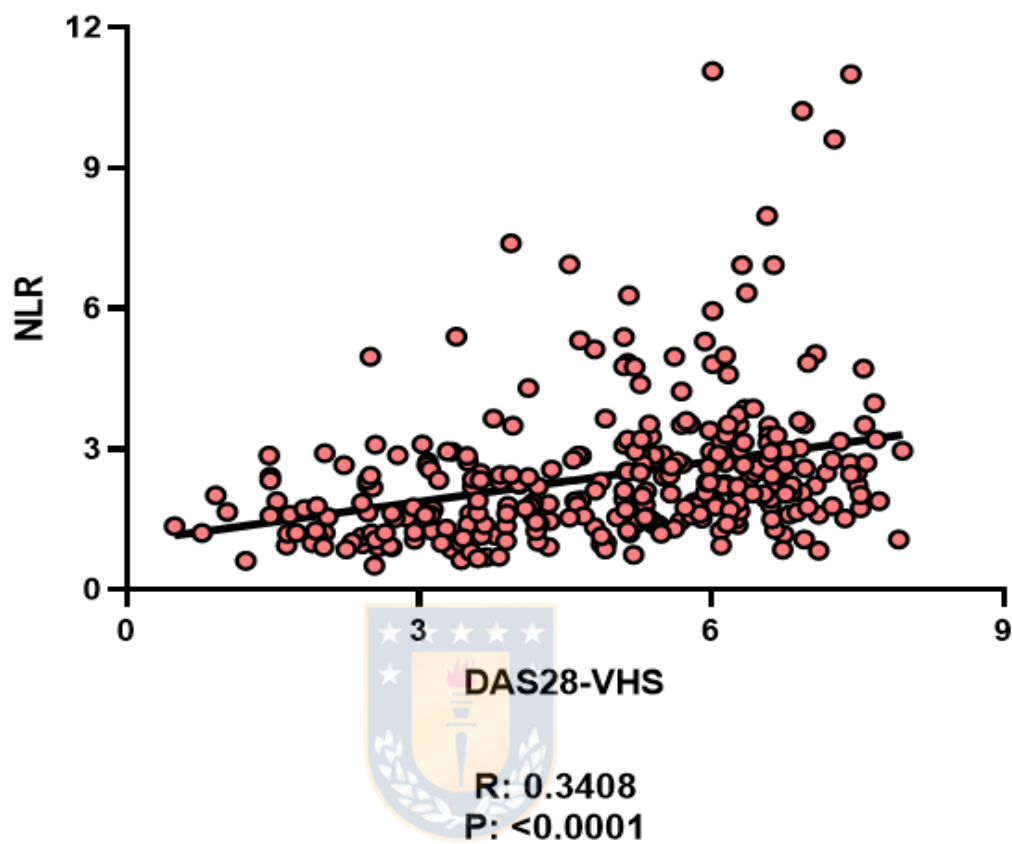
**Tabla 5-4:** Valores promedio de NLR y DAS28-VHS para 91 en terapia biológica, según Anticuerpos Anti-Péptido Citrulinado.

	Anti-CCP Positivo		Anti-CCP Negativo	
	DAS28-VHS	NLR	DAS28-VHS	NLR
Promedio	4.98	2.56	5.00	1.81
Desviación Estándar	1.76	1.56	1.62	0.86

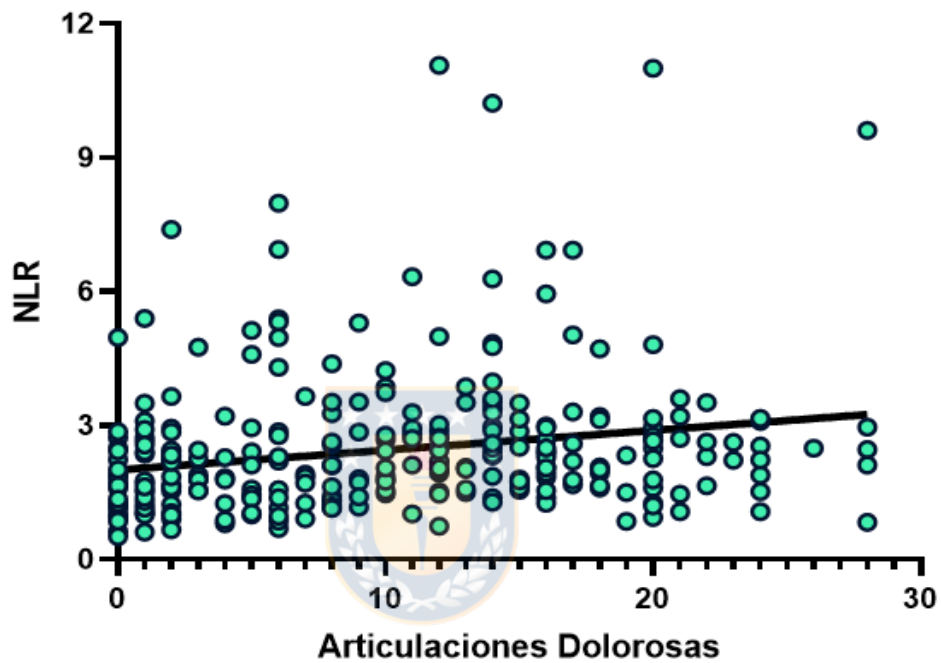
### 5.2.3. Correlación con la Relación Neutrófilo/Linfocito

Las 316 variables clínicas, que incluyen todos los tiempos de terapia, inclusive aquellos antes del inicio de la terapia biológica, mostraron una correlación positiva entre los valores de NLR y las 5 variables estudiadas. Para el valor de NLR vs DAS28-VHS se obtuvo un coeficiente de 0.3408 (Ilustración 5-5), para articulaciones dolorosas 0.2817 (Ilustración 5-6), para articulaciones inflamadas 0.3084 (Ilustración 5-7), para EVA 0.1915 (Ilustración 5-8) y para VHS 0.4245 (Ilustración 5-9), todos con un  $p < 0.0001$ , excepto con EVA, te tuvo un valor de  $p = 0.0003$ .



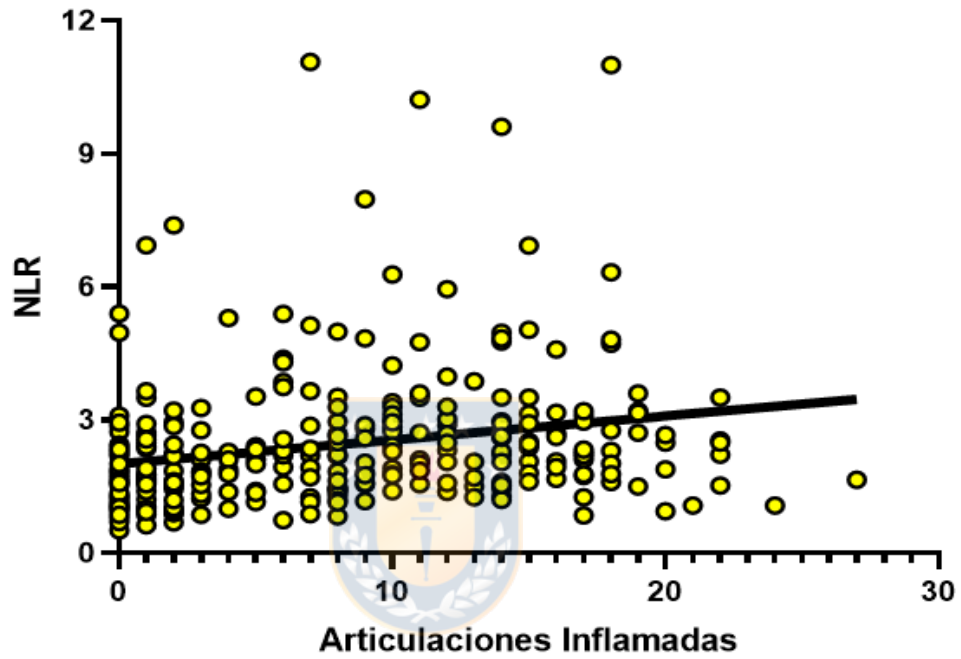


**Ilustración 5-5:** Correlación de NLR versus DAS28-VHS. (P: <0.0001). Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. Realizado con test de Spearman.



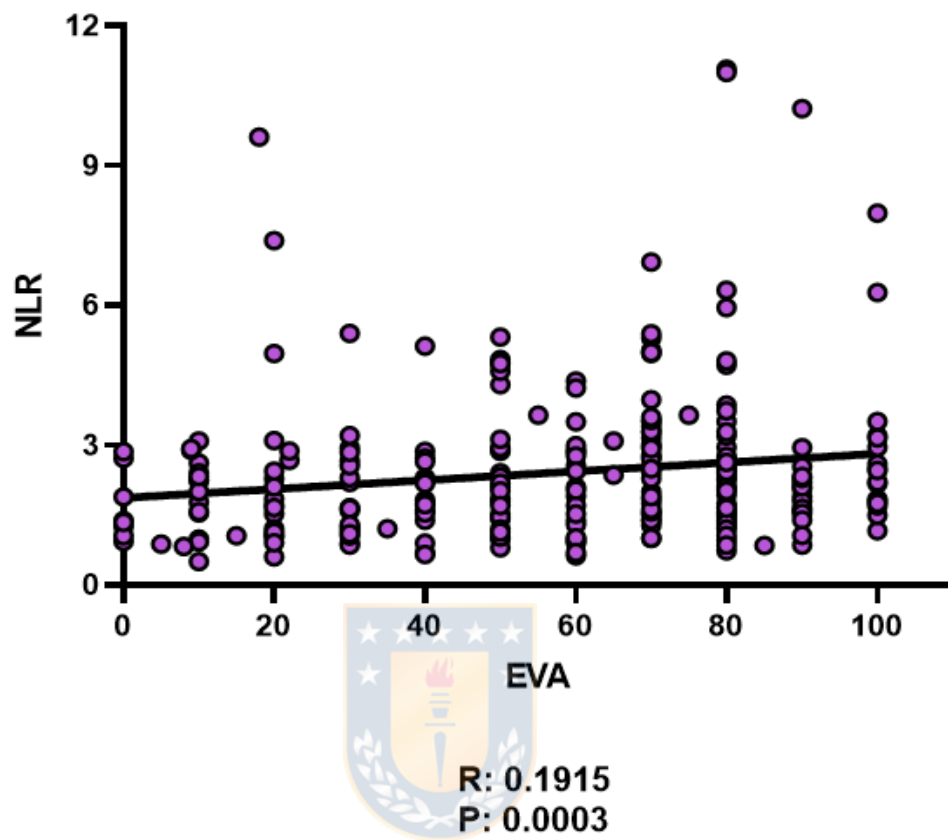
R: 0.2817  
P: <0.0001

**Ilustración 5-6:** Correlación NLR versus Articulaciones Dolorosas. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. Realizado con Test de Spearman.



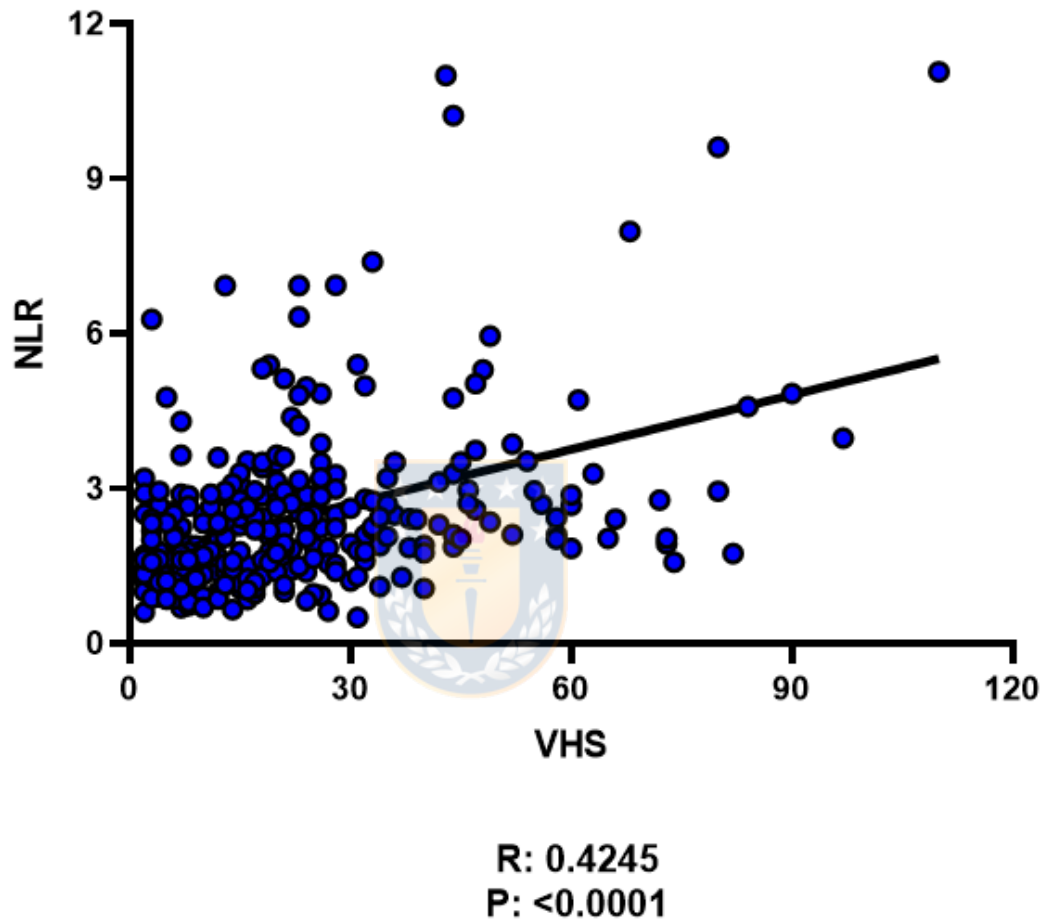
R: 0.3084  
P: <0.0001

**Ilustración 5-7:** Correlación NLR versus Articulaciones Inflamadas. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. Realizado con test de Spearman.



**Ilustración 5-8:** Correlación NLR versus EVA. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. Realizado con test de Spearman.



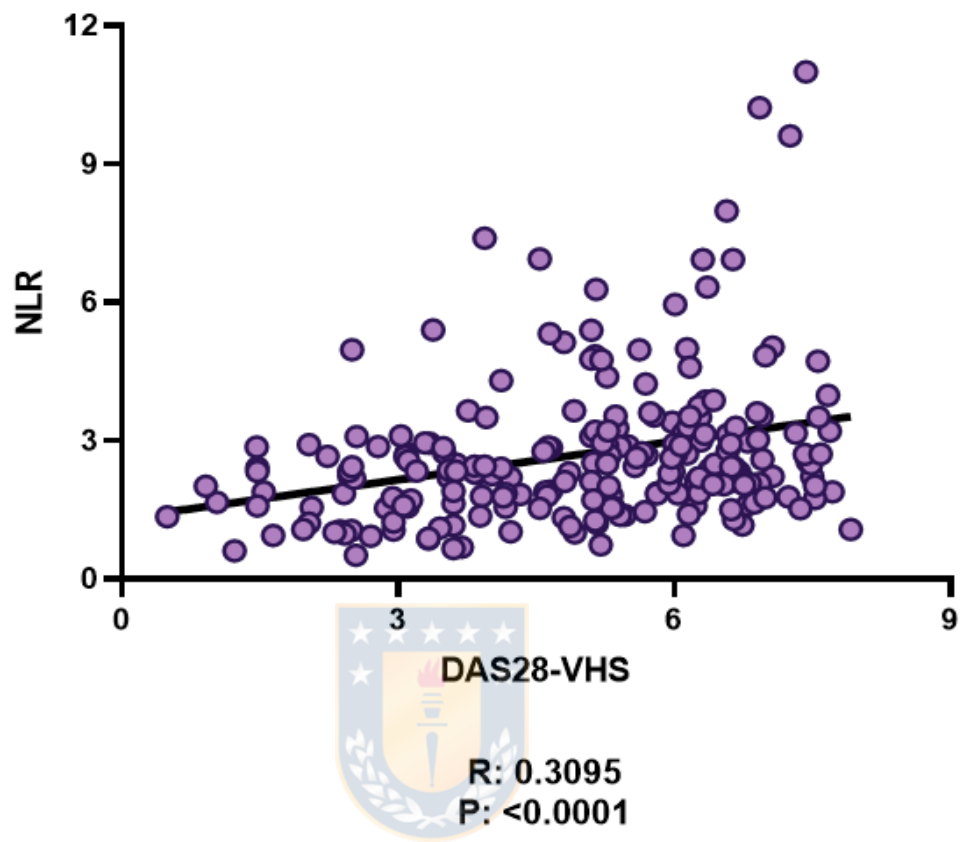


**Ilustración 5-9:** Correlación NLR versus VHS. Para 316 controles (en tiempo previo y post terapia) de 91 pacientes en terapia biológica. Realizado con test de Spearman.

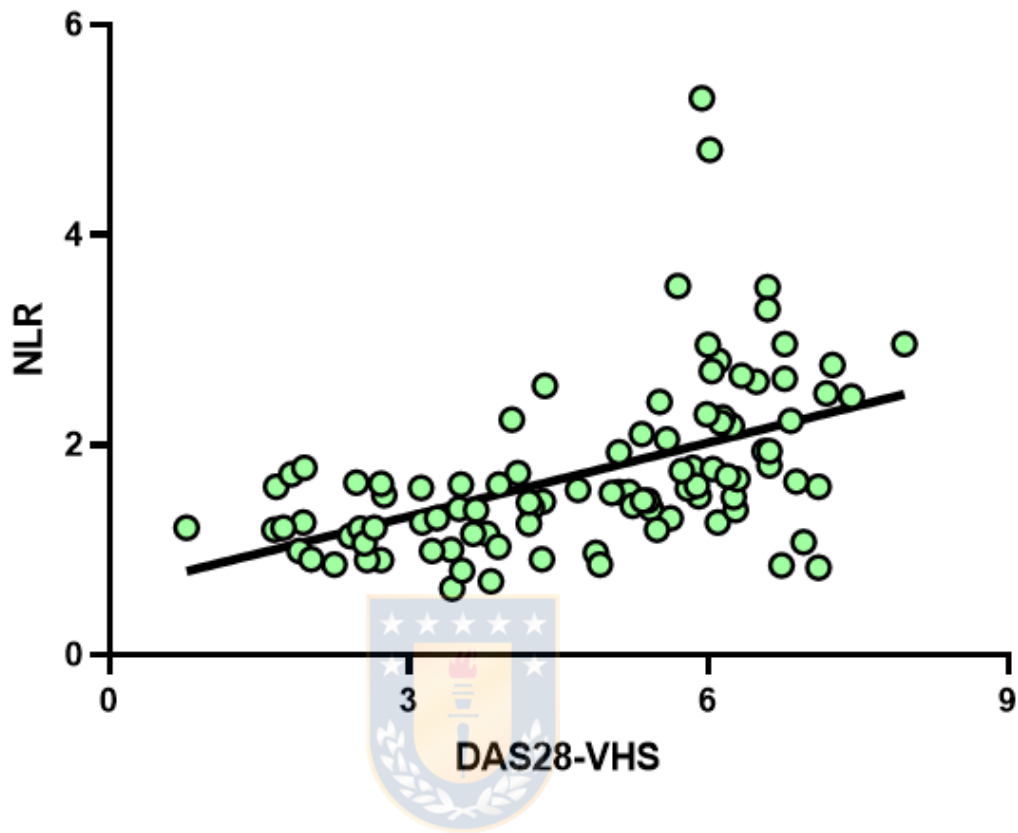
#### **5.2.4. Correlación de la NLR con DAS28-VHS según serología**

Las correlaciones de NLR con DAS28-VHS según la serología de FR, fueron positivas tanto para pacientes con FR positivo (coeficiente de correlación de 0.3095) (Ilustración 5-10), como para pacientes con FR negativo (coeficiente de correlación de 0.5599) (Ilustración 5-11), ambos con un  $p < 0.0001$ .





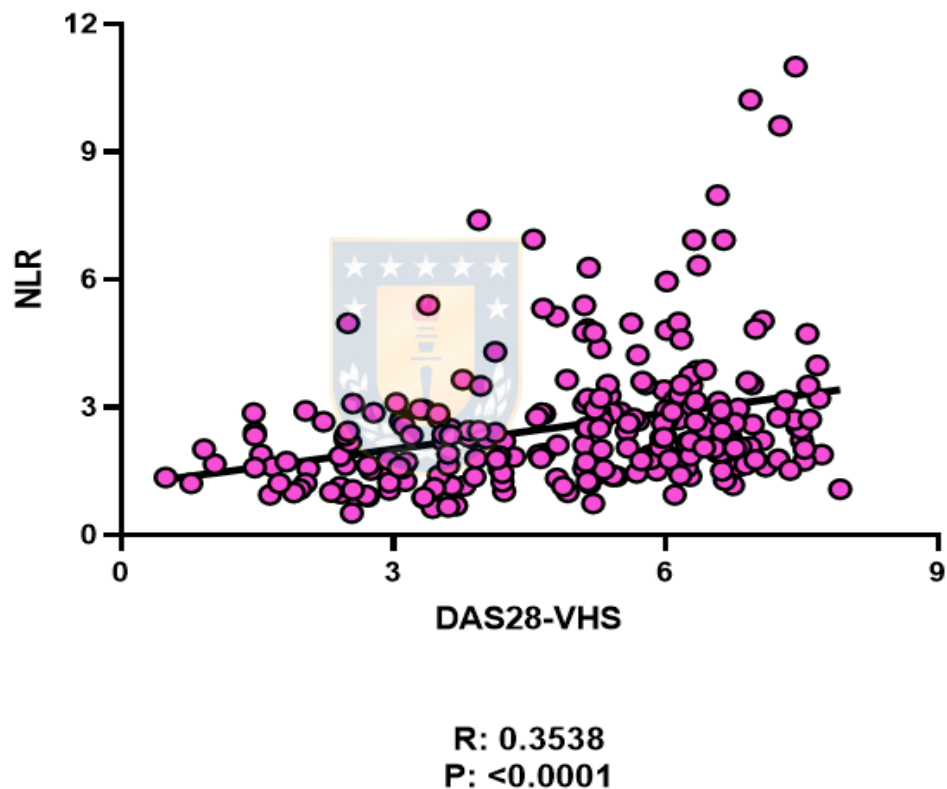
**Ilustración 5-10:** Correlación de NLR versus DAS28-VHS en pacientes con AR con FR positivo. Para 217 controles de 65 pacientes con FR positivo. Realizado con test de Spearman.



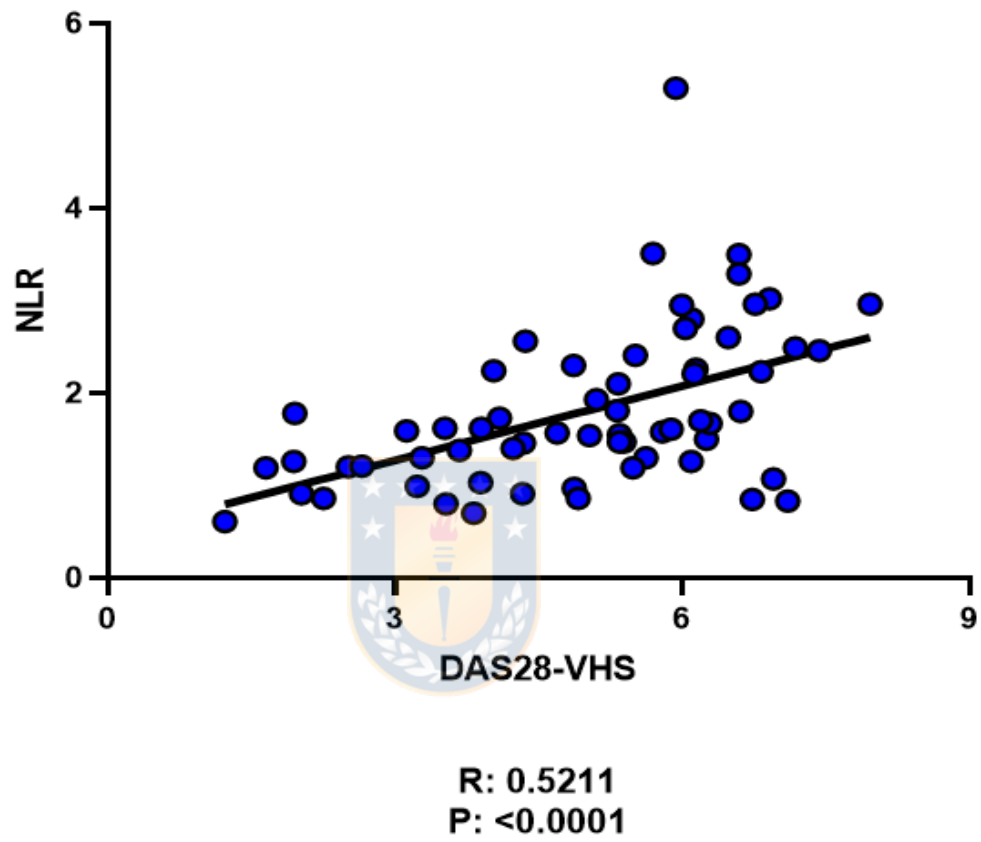
R: 0.5599  
P: <0.0001

**Ilustración 5-11:** Correlación de NLR versus DAS28-VHS en pacientes con AR con FR negativo. Para 99 controles de 16 pacientes con FR negativo. Realizado con test de Spearman.

En el caso de las correlaciones de NLR con DAS28-VHS de acuerdo con los anticuerpos Anti-CCP, ambas fueron positivas para los pacientes con Anti-CCP positivo con una correlación de NLR con DAS28-VHS de 0.3538 (Ilustración 5-12) y para los pacientes con Anti-CCP negativo la correlación fue de 0.5211 (Ilustración 5-13), ambos con un  $p < 0.0001$ .



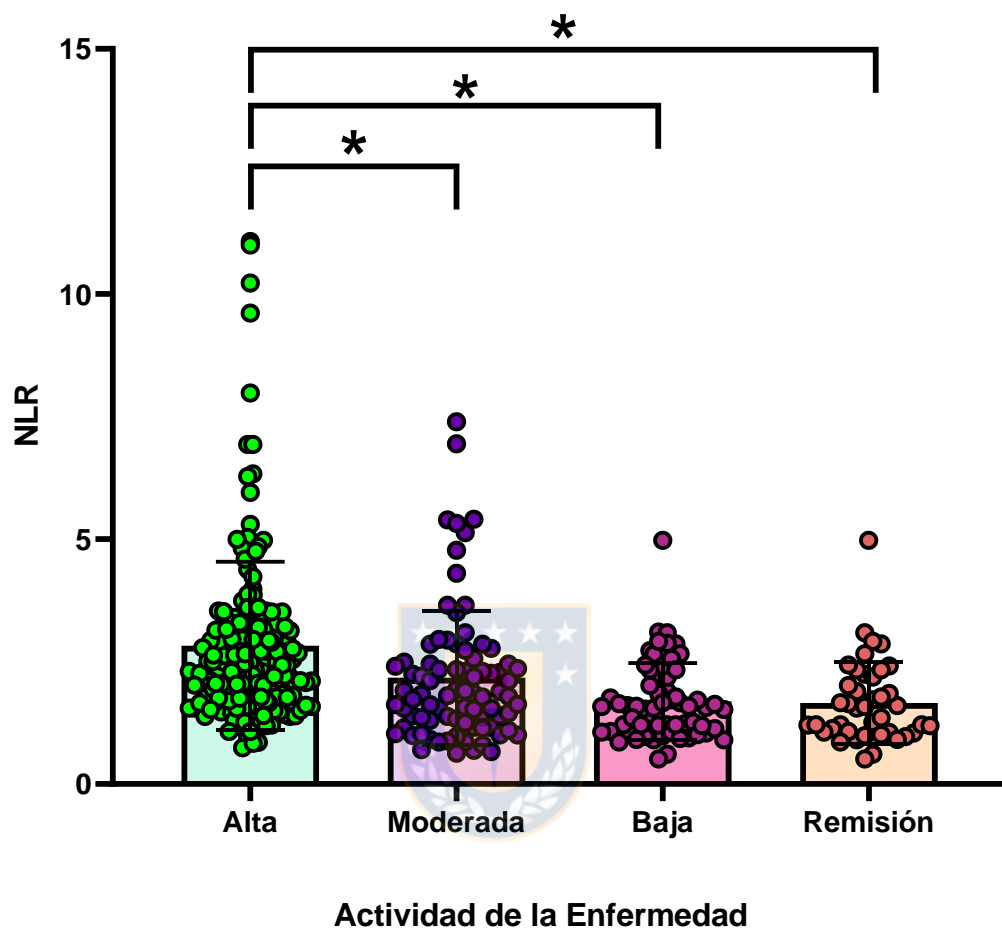
**Ilustración 5-12:** Correlación de NLR versus DAS28-VHS en pacientes con AR con Anti-CCP positivo. Para 250 controles de 73 pacientes con Anti-CCP positivo. Realizado con test de Spearman.



**Ilustración 5-13:** Correlación de NLR versus DAS28-VHS en pacientes con AR con Anti-CCP negativo. Para 64 controles de 18 pacientes con Anti-CCP negativo. Realizado con test de Spearman.

### **5.2.5. Comparación de la Relación Neutrófilo/Linfocito según actividad de la enfermedad**

Los 91 pacientes con AR fueron controlados tanto al inicio como durante la terapia, y en cada control se calculó el DAS28-VHS para el seguimiento de la efectividad de la terapia biológica. Según el valor de DAS28-VHS se clasificaron en los 4 grupos según la actividad de la enfermedad y a cada grupo se le determinó el valor promedio de NLR. Los pacientes con una alta actividad de la enfermedad tuvieron un valor promedio de NLR de  $2.82 \pm 2.95$ , para los pacientes con una moderada actividad de la enfermedad fue  $2.17 \pm 1.86$ , para los pacientes con una baja actividad  $1.68 \pm 0.62$  y para los pacientes en remisión el valor promedio de NLR fue de  $1.65 \pm 0.71$  (Ilustración 5-14). La prueba estadística de análisis de grupos arrojó que el valor promedio de NLR en pacientes con alta actividad de la enfermedad era significativamente mayor que los pacientes con una actividad moderada, baja y en remisión de la enfermedad (Tabla 5-5).



**P:0.0001**

**Ilustración 5-14:** Comparación de promedios de NLR según clasificación de la actividad de la enfermedad. Para los 316 controles de 91 pacientes con AR en terapia biológica. Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.



**Tabla 5-5:** Significancia de la prueba de Tukey de comparación de NLR entre grupos de actividad de la enfermedad en paciente con AR en terapia biológica.

Comparación	P Value	Significancia	Diferencia entre los grupos
Alta vs Moderada	0.0037	Sí	0.6546
Alta vs Baja	<0.0001	Sí	1.138
Alta vs en Remisión	<0.0001	Sí	1.170
Moderada vs Baja	0.1829	No	0.4834
Moderada vs Remisión	0.2258	No	0.5158
Baja vs Remisión	0.9995	No	0.03237

### **5.3. Caracterización de la NLR según terapia biológica**

#### **5.3.1. Caracterización de los pacientes con Artritis Reumatoide con tratamiento por seis meses**

Considerando que para el desarrollo el objetivo 3 se requería contar con los datos antes y después de la terapia de 3 y 6 meses, del total de los 91 pacientes, sólo 41 cumplieron con este criterio (Metodología, criterios de inclusión, página N° 43). De los 41 pacientes, 73.2% (n=31) presentaron una terapia efectiva a los 6 meses de tratamiento (valor de DAS28-VHS inferior 5,1) y el 26.8% (n=10) fueron refractarios a la terapia biológica a los 6 meses.

Además, estos 41 pacientes fueron agrupados según las terapias biológicas administradas, de las cuales 16 pacientes utilizaban Adalimumab, 16 Abatacept y 9 Etanercept. La clasificación según la efectividad de la terapia arrojó que un 62.5% de los pacientes tratados con Abatacept presentaron una disminución del DAS28-VHS a menos de 5.1, mientras que este porcentaje fue de 81.2% para Adalimumab y de 88.9% para Etanercept.

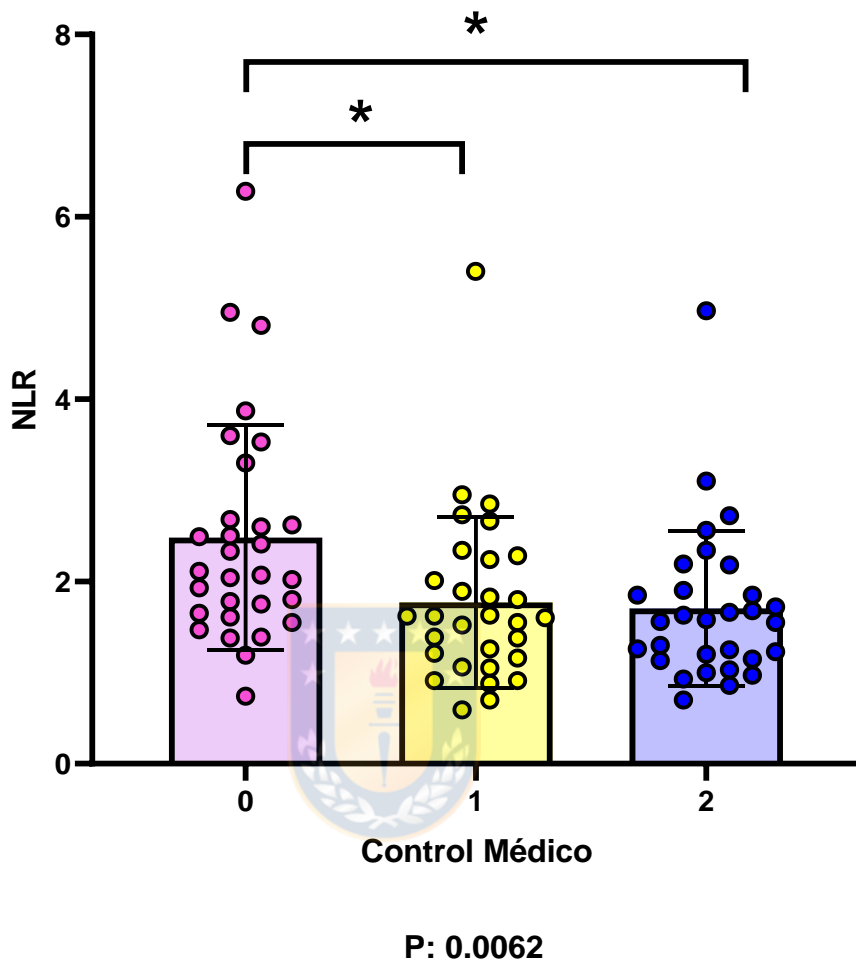
## 5.3.2. Comparación entre grupos

### 5.3.2.1. Según efectividad de terapia

Los pacientes con AR en tratamiento con terapia biológica, fueron clasificados según su valor de DAS28-VHS correspondiente al sexto mes de terapia. Así los pacientes con un valor superior o igual a 5.1, fueron clasificados como pacientes refractarios a la terapia biológica y los con un valor inferior a 5.1, como pacientes con respuesta efectiva a la terapia biológica.



Al comparar los valores promedio de NLR de los pacientes con AR en tratamiento con terapia biológica efectiva (n=30), en las tres fechas de control de la Ley Ricarte Soto, arrojaron un promedio de NLR de  $2.48 \pm 1.52$  antes del inicio de la terapia biológica,  $1.77 \pm 0.88$  para el primer control y  $1.70 \pm 0.72$  para el segundo control (Ilustración 5-15). Mediante el test de Tukey los grupos comparados indicaron que el valor de NLR antes del inicio de la terapia biológica fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que los promedios de NLR en las otras dos fechas (Tabla 5-6).



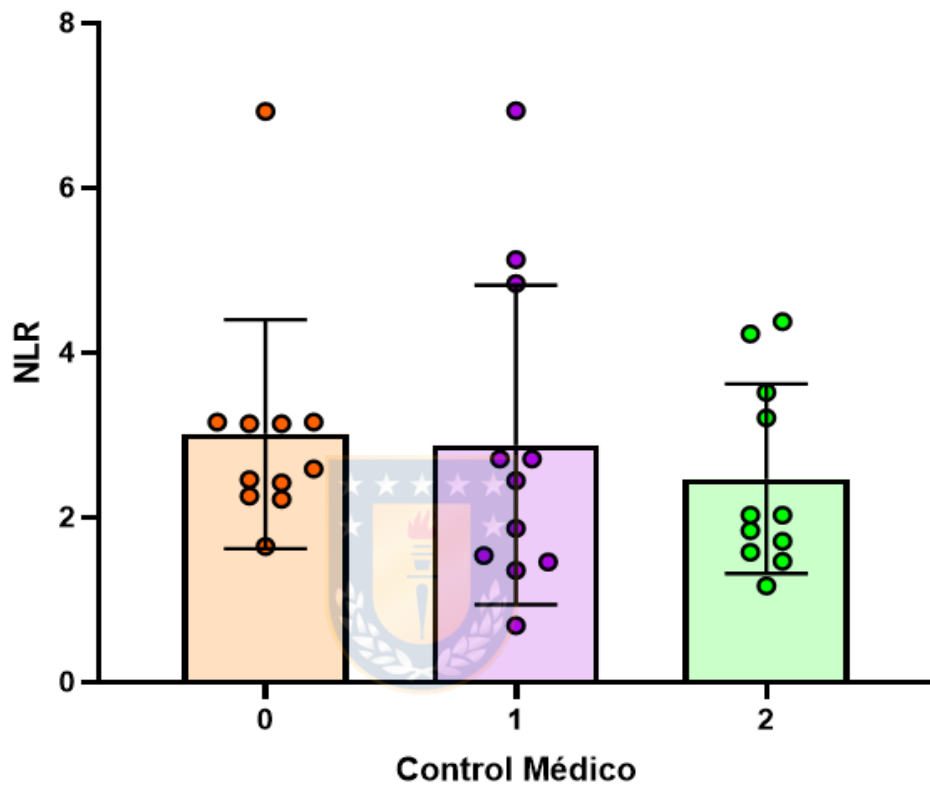
**Ilustración 5-15:** Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica efectiva. Para 30 pacientes con terapia biológica efectiva con Abatacept, Etanercept y Adalimumab. Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.

**Tabla 5-6:** Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica efectiva.

Tiempo	P value	Significativo	Diferencia entre grupos
0 vs 1	0.0334	Sí	0.7143
0 vs 2	0.0267	Sí	0.7800
1 vs 2	0.9221	No	0.0657

Por otra parte, los pacientes refractarios a la terapia biológica (n=11) tuvieron como valores promedio de NLR,  $3.01 \pm 1.93$  para antes del inicio de la terapia biológica  $2.88 \pm 3.76$  para el primer control y  $2.47 \pm 1.32$  para el segundo control (Ilustración 5-16), luego del inicio de la terapia biológica. Estadísticamente en análisis entre grupos demostró, que las diferencias no eran significativas (Tabla 5-7).





P: 0.6894

**Ilustración 5-16:** Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica refractaria. Para 11 pacientes con terapia biológica refractaria a Etanercept, Abatacept y Adalimumab. Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.

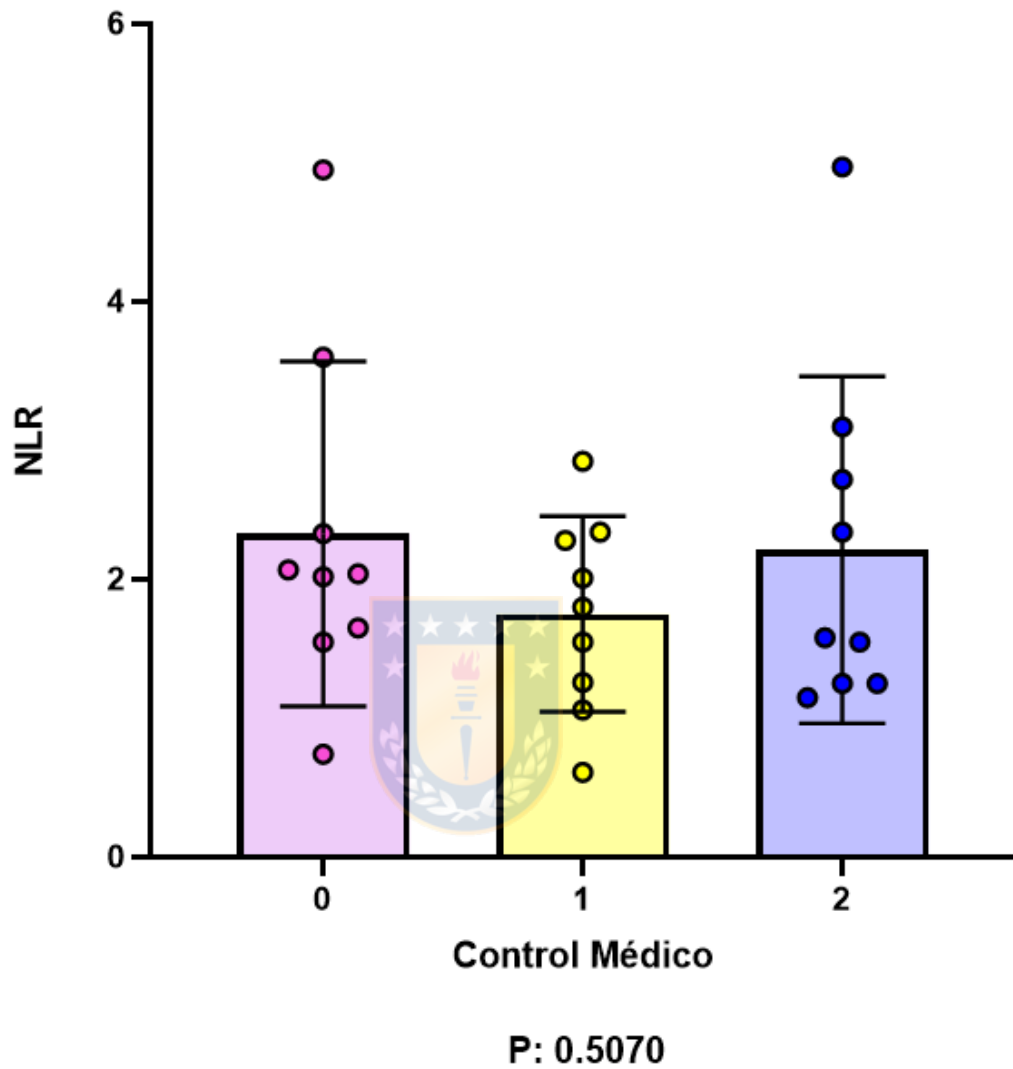
**Tabla 5-7:** Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica inefectiva.

Tiempo	P value	Significativo	Diferencia entre grupos
0 vs 1	0.9783	No	0.1300
0 vs 2	0.6869	No	0.5418
1 vs 2	0.8039	No	0.4118

### 5.3.2.2. Pacientes en tratamiento con Abatacept

Los pacientes con terapia efectiva con Abatacept (n=9), obtuvieron un promedio de NLR de  $2.33 \pm 1.54$  para el control antes del inicio de la terapia biológica,  $1.75 \pm 0.50$  para el primer control y  $2.21 \pm 1.56$  para el segundo control (Ilustración 5-17). La prueba de comparación entre grupos muestra que la diferencia entre los valores no es significativa (Tabla 5-8).



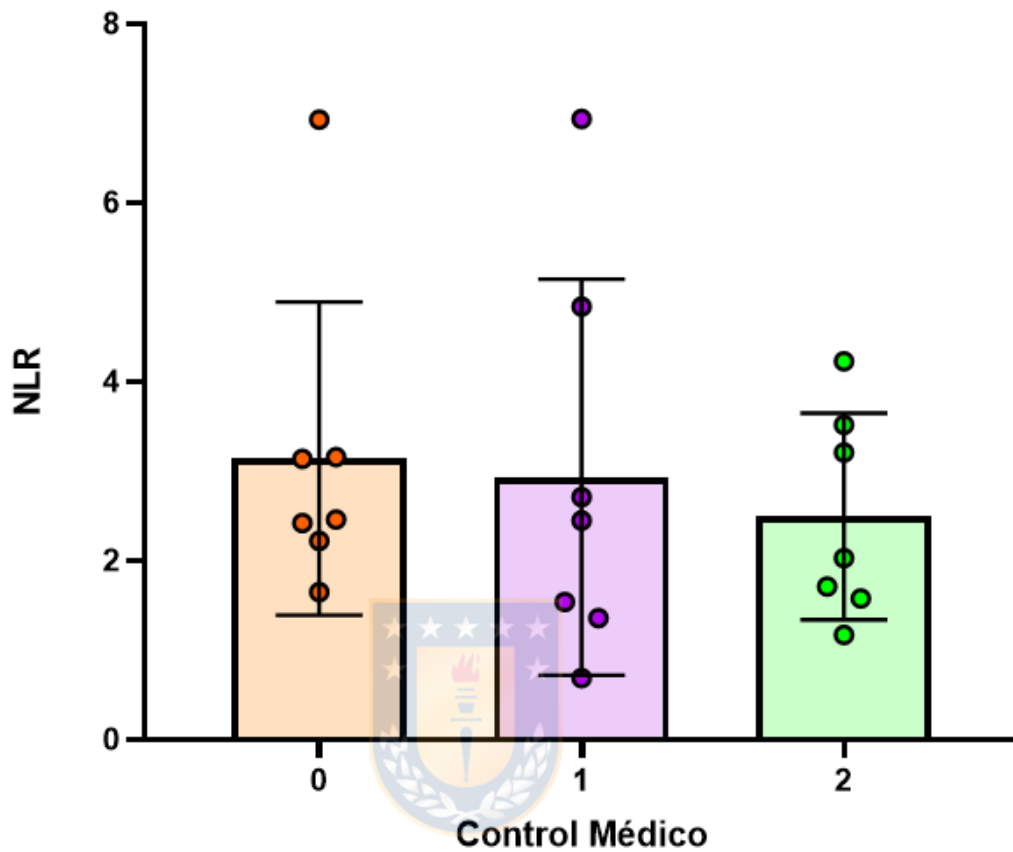


**Ilustración 5-17:** Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica efectiva a Abatacept. Para 9 pacientes con terapia biológica efectiva con Abatacept. Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.

**Tabla 5-8:** Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica efectiva con Abatacept.

Comparación	P value	Significancia	Diferencia entre grupos
0 vs 1	0.5130	No	0.5767
0 vs 2	0.9728	No	0.1156
1 vs 2	0.6496	No	-0.4611

En cuanto a los pacientes con terapia refractaria a Abatacept (n=7), mostraron un valor promedio de  $3.14 \pm 2.63$  para el control antes del inicio de la terapia biológica,  $2.93 \pm 4.20$  para el primer control y  $2.49 \pm 1.14$  para el segundo control (Ilustración 5-18). El análisis entre grupos no mostró diferencias significativas entre ellos (Tabla 5-9).



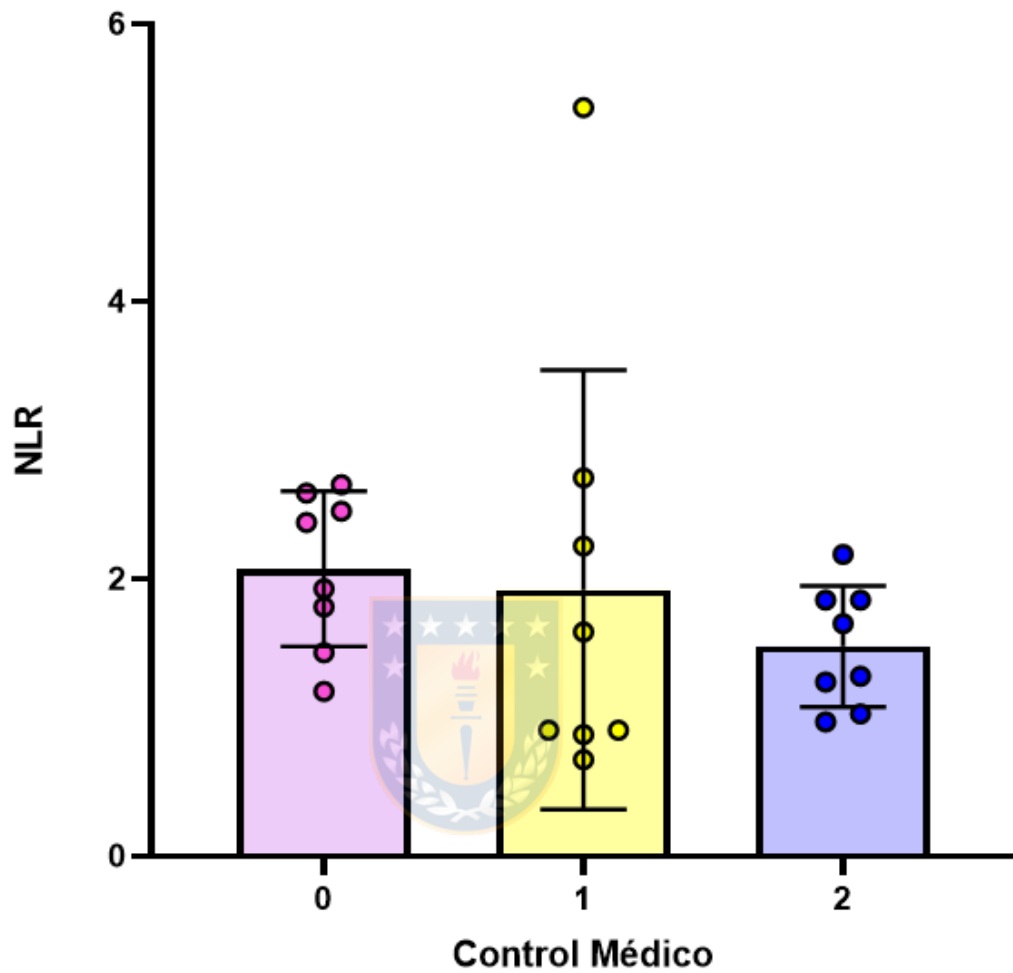
**Ilustración 5-18:** Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica refractaria a Abatacept. Para 7 pacientes refractarios a Abatacept. Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.

**Tabla 5-9:** Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica refractaria a Abatacept.

Comparación	P value	Significancia	Diferencia entre grupos
0 vs 1	>0.999	No	-0.0133
0 vs 2	0.8389	No	0.5800
1 vs 2	0.8322	No	0.5933

### 5.3.2.3. Pacientes en tratamiento con Etanercept.

Los pacientes con terapia efectiva con Etanercept (n=9) obtuvieron un promedio de NLR de  $2.07 \pm 0.31$  para el control antes del inicio de la terapia biológica,  $1.92 \pm 2.51$  para el primer control y  $1.51 \pm 0.19$  para el segundo control (Ilustración 5-19). La prueba de comparación entre grupos muestra que la diferencia entre los valores no es significativa (Tabla 5-10).



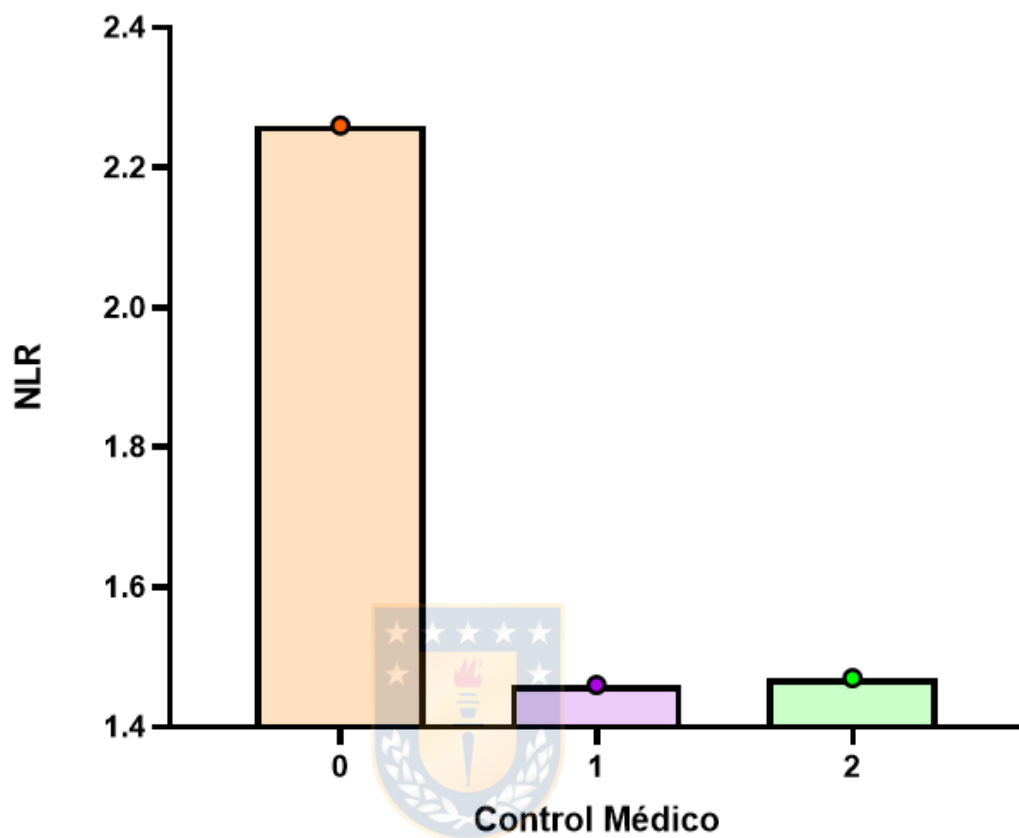
**P: 0.5243**

**Ilustración 5-19:** Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica efectiva a Etanercept. Para 9 pacientes con terapia biológica efectiva con Etanercept. Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.

**Tabla 5-10:** Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica efectiva a Etanercept.

Comparación	P value	Significancia	Diferencia entre grupos
0 vs 1	0.9519	No	0.1500
0vs 2	0.5158	No	0.5588
1 vs 2	0.9677	No	0.4088

En cuanto al paciente con terapia refractaria a Etanercept (n=1), mostró un valor de 2.26 para el control antes del inicio de la terapia biológica, 1.46 para el primer control y 1.47 para el segundo control (Ilustración 5-20). El análisis entre grupos no pudo realizarse debido a que sólo se contó con un paciente.



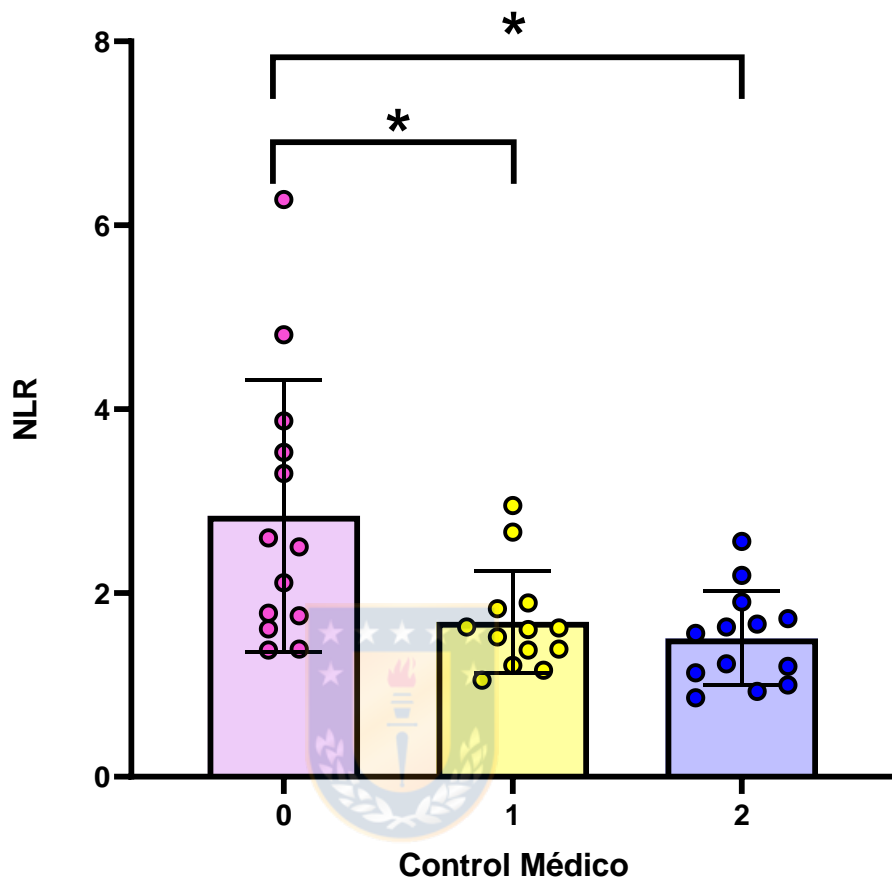
**Ilustración 5-20:** Comparación de la NLR en los controles médicos en paciente con AR en terapia biológica refractaria a Etanercept.

#### **5.3.2.4. Pacientes en tratamiento con Adalimumab**

Los pacientes con terapia efectiva con Adalimumab (n=13) obtuvieron un promedio de NLR de  $2.84 \pm 2.19$  para el control antes del inicio de la terapia biológica,  $1.68 \pm 0.31$  para el primer control y  $1.50 \pm 0.26$  para el segundo control (Ilustración 5-21). La prueba de comparación entre grupos muestra que la diferencia entre los valores es significativa, siendo el valor promedio de NLR antes del inicio de la terapia biológica mayor que el del primer y segundo control (Tabla 5-11).







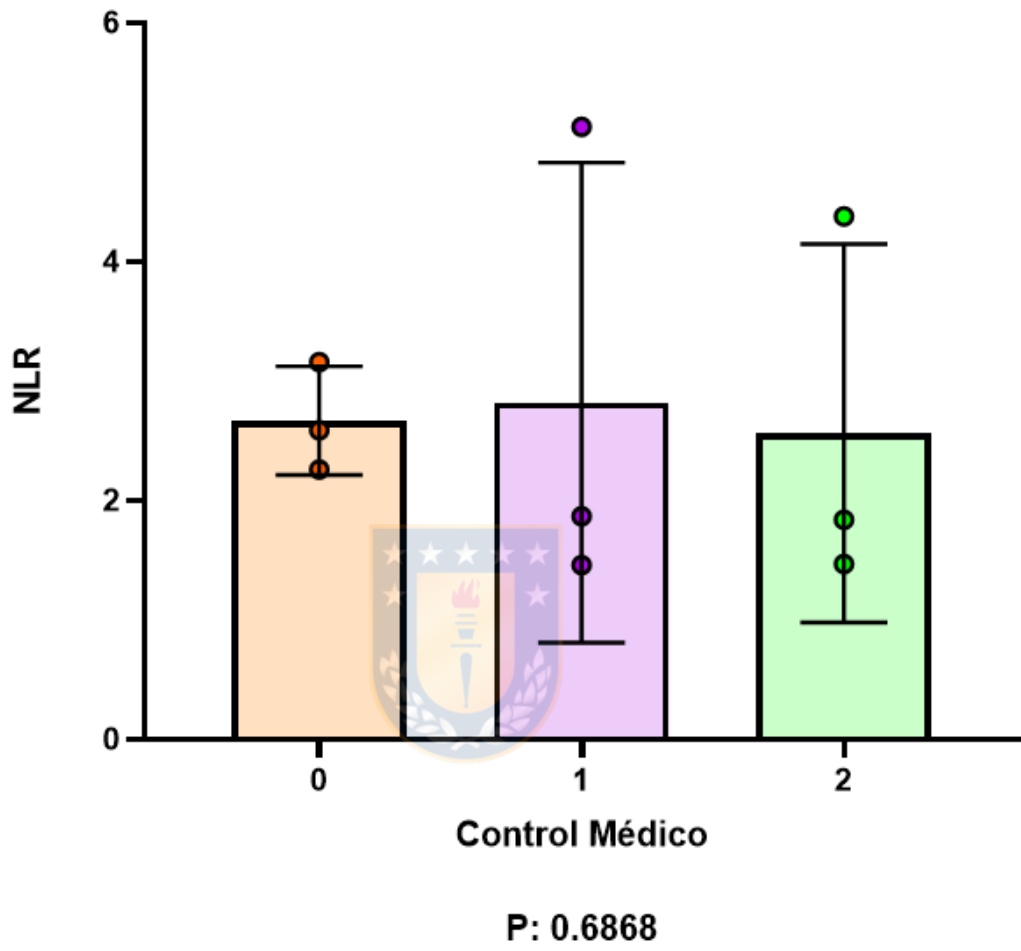
P: 0.0020

**Ilustración 5-21:** Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica efectiva a Adalimumab. Para 13 pacientes con terapia biológica efectiva con Adalimumab. Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.

**Tabla 5-11:** Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica efectiva a Adalimumab.

Comparación	P value	Significancia	Diferencia entre grupos
0 vs 1	0.0110	Si	1.155
0 vs 2	0.0031	Si	1.334
1 vs 2	0.8837	No	0.1785

En cuanto a los pacientes con terapia refractaria a Adalimumab (n=3), estos mostraron un valor promedio de  $2.67 \pm 0.21$  para el control antes del inicio de la terapia biológica,  $2.82 \pm 4.04$  para el primer control y  $2.56 \pm 2.51$  para el segundo control (Ilustración 5-22). El análisis entre grupos no mostró diferencias significativas entre ellos (Tabla 5-12).



**Ilustración 5-22:** Comparación de la NLR en los controles médicos en pacientes AR con terapia biológica refractaria a Adalimumab. Para 3 pacientes refractarios a Adalimumab. Realizado con test ANOVA y Tukey para comparación entre grupos.

**Tabla 5-12:** Significancia de la prueba de comparación de NLR entre grupos de fechas en pacientes con terapia biológica refractaria a Adalimumab.

Comparación	P value	Significancia	Diferencia entre grupos
0 vs 1	0.9918	No	-0.1500
0 vs 2	0.9958	No	0.1067
1 vs 2	0.9762	No	0.2567

## **6. DISCUSIÓN**

### **6.1. Caracterización de la NLR en pacientes con AR y sujetos controles**

#### **6.1.1. Determinación de la Relación Neutrófilo/Linfocito**

Reconociendo que en Chile no se miden otros biomarcadores del sistema inmune asociados con la inflamación presente en AR, y que en otros países se ha logrado demostrar que la razón Neutrófilo/Linfocito (NLR) ha resultado ser un biomarcador que muestra diferencias en los pacientes AR según actividad de la enfermedad, fue relevante en este estudio, realizar por primera vez en nuestro país, una asociación entre la actividad de la enfermedad en pacientes con tratamiento con anticuerpos monoclonales y NLR.

Para el primer objetivo, se estudió si NLR mostraba diferencias entre pacientes con AR y sujetos controles, demostrando que el promedio de NLR en el grupo de pacientes con AR (2.72) fue significativamente mayor que en el grupo control (1.53). Los resultados obtenidos demuestran concordancia con lo descrito en el estudio de la población coreana de 82 pacientes con AR, donde la media de NLR fue de 3.44 en pacientes con AR y de 1.73 en sujetos controles (Lee et al., 2019). Pese a que los pacientes con AR en Chile presentan una NLR menor que los

pacientes de Corea (2.72 *versus* 3.44), es posible aseverar que para población chilena, las diferencias entre pacientes AR y sujetos sanos son significativas y más aún, el valor NLR en pacientes con AR es mayor.

Por su parte, respecto de las diferencias raciales y de género, los resultados de NLR obtenidos en los estudios que se publicaron para Estados Unidos y Corea, indican que la distribución geográfica y las variables ambientales asociadas influyen en el valor de NLR según etnia y género, por lo que se hace complejo establecer un valor de referencia global mundial, sin llevar a cabo un análisis poblacional localizado que permita determinar las variables pertinentes, que identifiquen la presencia de la inflamación en la población mediante esta relación. En Chile, cuya etnia es principalmente amerindia, el valor de la NLR de los sujetos controles (1.53) fue menor que la reportada en Estados Unidos (NLR: 2.08); sin embargo debemos tener en cuenta que para este primer objetivo realizado en sujetos hispano-chilenos, se reclutaron sólo 11 individuos, mientras que los hispano-estadounidenses fueron 2904, cifra muy superior que define un resultado más representativo, aun cuando este estudio incluyó a sujetos que presentaban otras enfermedades asociadas, como diabetes o patologías cardíacas (Azab et al., 2014). Para Chile, resulta interesante considerar ampliar el grupo control sin AR, a través de los datos aportados desde el hemograma, para dar mayor representatividad al valor de la población control.

### **6.1.2. Comparación entre grupos según actividad de la enfermedad**

Identificando que en el grupo de pacientes AR, existieron pacientes categorizados en tres de los cuatro grupos de actividad de la enfermedad establecidos según el valor de DAS28-VHS, se quiso conocer si el valor de NLR mostraba diferencias entre ellos. De manera interesante, se pudo encontrar diferencias para el valor de NLR. En el grupo de alta actividad, se observó que los pacientes con un DAS28-VHS superior a 5.1, presentaban una NLR (3.69) significativamente mayor comparado con los otros dos grupos (2.49 y 2.23), resultado que se asemeja a lo encontrado en los pacientes del estudio Japonés donde el valor promedio de NLR fue de  $5.9 \pm 3.5$  para todos los pacientes y que al separar por actividad de la enfermedad el grupo de mayor NLR corresponde al de mayor actividad (Koiwa et al., 2016). Aquellos pacientes con una actividad alta de la enfermedad y que presentan una NLR más alta, podrían entonces reflejar de mejor manera el proceso inflamatorio permanente generado por la AR cuando no reciben una terapia efectiva. En los diversos estudios poblaciones, incluido el nuestro, para los grupos de baja y moderada actividad de la enfermedad, no se encuentran diferencias significativas para el promedio de NLR entre ambos grupos, y esto podría deberse a la baja precisión de la fórmula DAS28-VHS para demostrar realmente diferencias entre una actividad moderada y baja, ya que incluye dos parámetros muy subjetivos y a criterio del paciente, como son; la indicación por parte del paciente de las articulaciones dolorosas y la percepción del estado de salud general (EVA). Ambos parámetros

pueden afectar directamente la interpretación del resultado del estado inflamatorio real que cursa el paciente, pudiendo generar sesgos. Dado que ningún paciente se encontraba con la enfermedad en remisión, fue imposible comparar este grupo con los restantes.

### **6.1.3. Correlación con la Relación Neutrófilo/Linfocito**

Utilizando los resultados de la población piloto, se determinó si había una mejor correlación entre NLR y DAS28-VHS que con la VHS sola. La correlación de la NLR con el DAS28-VHS, fue bastante superior que la correlación con la VHS. Este último resultado es poco concordante a la hora de establecer el estado real de inflamación que representa VHS y NLR, ya que si bien ambos son parámetros de inflamación, no representan la misma fase de ésta, pudiendo ser la NLR mejor para estados inflamatorios crónicos pero asociados a las células del sistema inmune y no a las proteínas de fase aguda que son las más importantes en la VHS. La alta correlación de DAS28-VHS con la NLR, indicaría que la razón NLR se podría considerar como parámetro inflamatorio de utilidad a la hora de evaluar a los pacientes con AR.

## **6.2. Caracterización de la NLR en pacientes con AR en terapia biológica**



### **6.2.1. Caracterización de los pacientes con AR en terapia biológica**

En pacientes con AR, la proporción por género son 5:1 mujeres *versus* hombres. De los datos recopilados de los 91 pacientes con terapia biológica del HGGB se pudo estimar que, por cada hombre, existen 17.2 mujeres refractarias a la terapia convencional con FARMES; ésto permite establecer al género femenino como un factor de riesgo para los pacientes con AR al momento de presentar una respuesta inefectiva, al tratamiento farmacológico de primera línea y por ende para iniciar tratamiento con terapia biológica. Además abre una valiosa ventana de oportunidades para analizar precozmente a pacientes con AR de sexo femenino que no responden óptimamente al tratamiento.



En cuanto a la serología, se puede obtener otro antecedente importante de aviso a la hora de identificar un paciente refractario a la terapia convencional, estimando que un 71.4% de los pacientes presentaron FR positivo y un 80.2% de los pacientes presentaba Anti-CCP positivo, lo que hace mucho más probable la refractariedad de aquellos pacientes con estos parámetros presentes.

El uso de terapia biológica inicial se distribuyó de forma equitativa en pacientes con AR usuarios de Adalimumab o Abatacept entre pacientes con serología positiva, mientras que, para los pacientes usuarios de Etanercept, se observó que

era la terapia de elección en pacientes con serología negativa. Las recomendaciones de la Sociedad Española de Reumatología para el tratamiento de la AR, indica que en primera instancia es de elección los anticuerpos monoclonales Anti-TNFa, pero también es necesario tomar en consideración otros aspectos como costo y disponibilidad de los medicamentos. En caso de falla a ellos se recomienda el uso de los Abatacept o Infliximab, pero no se descarta el uso de un nuevo anticuerpo monoclonal con mecanismo Anti-TNFa (Tornero et al., 2010).

#### **6.2.2. Correlación con NLR**

En los pacientes en terapia biológica, se realizaron correlaciones entre NLR y componentes del DAS28-VHS. Todas las correlaciones fueron positivas entre sí, pero el parámetro que tuvo la mejor correlación con la NLR fue la VHS. Este último resultado se encuentra dentro de lo esperado, al tratarse ambas variables de marcadores de inflamación. Sin embargo, aunque la correlación entre ambos es la más alta comparada con las correlaciones de NLR con articulaciones dolorosas, inflamadas y EVA, se puede reafirmar que ambos parámetros no representan el mismo origen inflamatorio, ya que su correlación es menor que 0.5 pero significativa ( $p < 0.001$ ). La correlación de NLR vs DAS28-VHS por su parte, presentó la segunda correlación más alta, lo que podría indicar que la NLR sería de utilidad a la hora de evaluar a los pacientes con AR para determinar con otro parámetro el estado inflamatorio en el que se encuentran.

En cuanto a la correlación entre NLR con las articulaciones dolorosas o con las inflamadas, éstas fueron muy semejantes, lo que podría justificarse debido a que generalmente la articulación inflamada es también dolorosa y se diferencian entre ambas a partir del origen del dolor, es decir, si corresponde a dolor articular o procedente de secuelas (Noa et al., 2011). En nuestro grupo de estudio, se presentaron pacientes con un mayor número promedio de artralgias (9.76), que número promedio de sinovitis (7.74) (Tabla 5-2), de las 28 articulaciones medidas según la Guía, por lo tanto resulta interesante buscar en un futuro, como se presenta NLR en base a estos dos parámetros en los pacientes AR con cualquier tipo de terapia.



De todas las correlaciones estudiadas, la que presentó una menor correlación con NLR fue con EVA, lo que probablemente se justifique por su elevado grado de subjetividad con relación a una escala de evaluación, donde la opinión del paciente influye directamente con los resultados informados y no indica necesariamente el estado inflamatorio específico frente a la AR. En su gran mayoría los pacientes con AR cursan con una depresión asociada a la sintomatología producida por la enfermedad, las limitaciones de movilidad que se reflejan, en no poder ser independientes en sus actividades diarias, produce en muchos casos una percepción distorsionada de la enfermedad (Maldonado et al., 2017).

### 6.2.3. Correlación según serología

La detección de Factor Reumatoide y de Anticuerpos Anti-CCP son mediciones claves para el clínico para establecer el diagnóstico de AR, sin embargo la ausencia de positividad no excluye a pacientes con AR. Para cumplir con los requisitos de acceso a la terapia biológica, se exige la medición de ambos parámetros antes del inicio de la terapia, sin requerir de positividad y no son exigidos durante la misma. Respecto de esta serología asociada con AR, la correlación entre la NLR y el DAS28-VHS, fue mucho mayor en pacientes con FR negativo que con FR positivo y el mismo fenómeno se observó entre pacientes con Anti-CCP negativo y positivo. Debido a que no se ha realizado ningún estudio que sea de las mismas características que éste, y que agrupe a los pacientes por serología, sería una buena opción observar si este fenómeno se repite en otras poblaciones, para evaluar si la NLR es un parámetro más representativo en los pacientes con serología negativa que con serología positiva. Los valores promedios de NLR (Tabla 5-3 y 5-4) son similares para ambos parámetros positivos, pero su promedio de DAS28-VHS es bastante similar, a diferencia de los pacientes con serología negativa que presentaron en promedio un valor promedio menor de NLR (Tabla 5-3 y 5-4), comparados con los positivos; con un promedio de DAS28-VHS similar.

#### **6.2.4. Comparación de la NLR según actividad de la enfermedad**

La actividad de la enfermedad medida como DAS28-VHS que clasifica a los pacientes AR en actividad de la enfermedad alta, moderada, baja y en remisión fueron analizadas en el grupo de pacientes en terapia biológica con el fin de comparar los valores promedios de NLR en cada grupo. Estos resultados coinciden con los resultados del grupo piloto (objetivo 1), observando nuevamente una clara diferencia entre los grupos, y siendo significativamente mayor el NLR promedio en el grupo con una alta actividad de la enfermedad (2.82) *versus* el promedio de NLR en los grupos de menor actividad. Sin embargo, los pacientes con una baja actividad de la enfermedad (1.68) y en estado de remisión (1.65), presentan un promedio de NLR sin diferencias significativas, lo que permite establecer similitudes entre estos grupos en relación con su bajo estado inflamatorio. En este grupo de pacientes con terapia biológica, los valores de NLR según clasificación de actividad de la enfermedad presentan similitud con los encontrados por el estudio en población japonesa, siendo más significativamente más alto el valor promedio de NLR en pacientes con una alta actividad de la enfermedad (Koiwa et al., 2016).

En cuanto al grupo en remisión, se pudo observar que su promedio de NLR (1.65) es bastante cercano a lo que se observó en la población india, cuyos pacientes en remisión tuvieron un valor de NLR menor a 1.4 (Chandrashekara et al., 2017)

### **6.3. Caracterización de la NLR según terapia biológica**

#### **6.3.1. Caracterización de los pacientes con AR en tratamiento con terapia biológica por seis meses**

La terapia biológica tiene como principal objetivo, lograr un cambio del estado inflamatorio de la enfermedad, cuando no ha sido posible lograr este objetivo terapéutico con FARMES. Sin embargo, la guía clínica sólo observa la efectividad de la terapia en base a DAS28-VHS, y no considera ningún otro parámetro de laboratorio en el seguimiento. Por tanto, en este estudio fue de interés principal determinar los valores de NLR según terapia biológica y efectividad de la misma. Se pudo identificar que los 41 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión (tiempo 0, 3 y 6 meses de terapia), y en base a la clasificación de DAS28-VHS a los 6 meses de terapia, presentaron una mejor respuesta a Etanercept seguido de Adalimumab, en comparación a Abatacept. En el grupo con Etanercept sólo hubo un paciente refractario a la terapia (12%), en comparación a los pacientes que recibieron Adalimumab y Abatacept, (16 pacientes usuarios de cada medicamento), donde un 19.8% de los pacientes fueron refractarios a Adalimumab, mientras que un 37.5% de pacientes fueron refractarios a la terapia con Abatacept. Esta información permite identificar al Adalimumab como la terapia biológica inicial que mostró mejor efectividad a los 6 meses de tratamiento en pacientes con serología positiva reclutados en Policlínico de Reumatología de HGGB. Para los pacientes con serología negativa, Etanercept mostró también una buena efectividad. La efectividad

asociada a Etanercept y Adalimumab es concordante con investigaciones españolas, que refieren que ambas terapias presentan una misma efectividad para el tratamiento de la AR, con la diferencia que Adalimumab es más costosa que Etanercept. (González et al., 2013). Una revisión sistemática concluye que en entre Abatacept, Etanercept y Adalimumab, no existen diferencias significativas en la efectividad terapéutica (Castillo et al., 2011).

### **6.3.2. Caracterización de la NLR según efectividad de la terapia**

Los 41 pacientes con AR en terapia biológica que fueron agrupados según terapia efectiva o terapia inefectiva, mostraron resultados de promedio de NLR diferentes para cada clasificación de efectividad de terapia. Los pacientes con terapia biológica efectiva tuvieron una significativa disminución de la NLR a los 3 y 6 meses de tratamiento, comparado con el valor inicial antes del comienzo del tratamiento con terapia biológica. Esta disminución de la NLR, puede ser de mucha utilidad para observar la efectividad de la terapia biológica anticipadamente a los 3 meses de tratamiento, pudiendo contribuir como un parámetro de evaluación de la progresión de la enfermedad. Actualmente se espera hasta el sexto mes para observar la evolución del paciente con AR en terapia biológica, perdiendo la oportunidad de evitar complicaciones y secuelas a largo plazo, tales como invalidez y pérdida de la calidad de vida, situación evitable al generar reemplazo de la terapia en forma precoz. Además de poder controlar la enfermedad, el hecho de estar en un

tratamiento inefectivo, no los deja exentos de presentar efectos adversos a estas terapias, siendo aún más importante evaluar el riesgo-beneficio del empleo de esta terapia.

En relación a los pacientes con respuesta inefectiva al tratamiento con terapia biológica, se observó que la NLR no disminuyó de forma significativa al tercer y al sexto mes, lo que puede transformarse en una importante herramienta a la hora de observar si la terapia no cumple su cometido, permitiendo orientar de manera objetiva la toma de decisión al médico reumatólogo respecto de la continuidad o cambio de terapia. Las recomendaciones de la Asociación Española de Reumatología, recomienda la evaluación precoz de la efectividad de la terapia a los 3 meses de tratamiento. (Tornero et al., 2010). En Chile la guía clínica recomienda esperar hasta el sexto mes de tratamiento para evaluar la efectividad. Sin embargo, una evaluación de la efectividad a los tres meses podría disminuir la pérdida de recursos públicos en terapias inefectivas y disminuir las probabilidades de padecer secuelas por tener tratamientos que no cumplen con los resultados esperados en pacientes con AR.

### **6.3.3. Caracterización de la NLR en pacientes según su tratamiento**

En los pacientes con terapia efectiva a Abatacept no se observó una disminución significativa de la NLR a los tres ni seis meses de tratamiento, resultado que concuerda con el estudio que se realizó en Japón, donde el único tratamiento que no

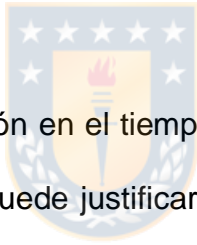


logró disminuir de forma significativa la NLR a los seis meses fue Abatacept (Koiwa et al., 2016). Sin embargo, la diferencia antes del inicio de la terapia biológica y a los tres meses de tratamiento se acerca mucho a una disminución significativa ( $p:0.513$ ), no obstante, es interesante observar que al sexto mes la NLR tiende a ser más alta que a los tres meses. En cuanto a los pacientes con terapia inefectiva se observó que no hubo cambios significativos de la NLR en ninguna de los dos controles a 3 y 6 meses, pero sus valores son más altos en comparación con terapia efectiva. El comportamiento errático de la NLR en pacientes usuarios de Abatacept, puede explicarse a través del mecanismo de acción singular que impide la presentación antigénica al linfocito T y por consiguiente, evita la activación de los linfocitos, pudiendo alterar la proliferación celular de linfocitos y afectando el número de células por unidad de sangre periférica.

En los pacientes en tratamiento efectivo con Etanercept, no se obtuvo una disminución significativa de la NLR a los tres ni a los seis meses, sin embargo, el parámetro estuvo muy cerca de disminuir significativamente al sexto mes ( $p:0.5158$ ), por lo que se puede establecer que la NLR disminuyó de forma progresiva, pero no alcanzó a mostrar significancia de los valores promedio. Estos antecedentes pueden ser de utilidad para observar el comportamiento de la NLR a medida que se trata a un paciente con este anticuerpo monoclonal, pudiéndose especular la posibilidad de que este tratamiento en específico necesite más tiempo para observar disminución de la actividad de la enfermedad. Lamentablemente, sólo un paciente con terapia

inefectiva a Etanercept, cumplió con los criterios de inclusión para participar de este estudio, lo que impidió el análisis de comparación entre grupos.

Finalmente, los pacientes con terapia efectiva a Adalimumab, demostraron una disminución de la NLR en forma significativa al tercer y sexto mes, pudiendo indicar en este caso, que la NLR es un buen parámetro de respuesta para los pacientes con esta terapia biológica. Para los pacientes refractarios a la terapia no se encontraron diferencias significativas de la NLR a ningún tiempo, comportamiento similar a los otros grupos.



Esta respuesta de disminución en el tiempo de la NLR para pacientes tratados con Etanercept y Adalimumab, puede justificarse por su mecanismo de acción, ya que ambos interfieren en la señalización del TNFa, impidiendo la unión con su receptor y disminuyendo la respuesta inflamatoria. Para definir si este fenómeno se continúa repitiendo y si el parámetro se comporta igual que en la población japonesa (donde en ambas terapias hubo una disminución significativa del NLR al sexto mes de tratamiento) (Koiwa et al., 2016), sería necesario incluir en un estudio futuro a un número igual de pacientes en ambas terapias.

## 7. CONCLUSIÓN

La NLR es significativamente mayor en todos los pacientes clasificados con un DAS28-VHS superior a 5.1, comparado con las otras tres categorías de actividad de la enfermedad.

Todas las correlaciones de NLR con las variables del DAS28-VHS son positivas, demostrando que la NLR efectivamente reflejan estados inflamatorios en pacientes con AR con o sin terapia biológica.

Los pacientes con serología negativa tienen una correlación mucho más alta de la NLR con el DAS28-VHS en comparación con los pacientes con serología positiva.

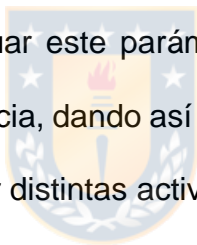
La NLR es un mejor indicador de eficacia de la terapia biológica en los tratamientos anti-TNF $\alpha$ , sobretodo con la administración de Adalimumab, en comparación con Abatacept.

De los resultados obtenidos, se puede establecer a la NLR como una herramienta útil y complementaria para el tratamiento de la AR, pudiendo establecer diferencias claras para pacientes con una alta actividad, en comparación con los otros grados de actividad de la enfermedad. Además, también resulta de utilidad para el seguimiento de pacientes en tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-TNF $\alpha$

## 8. PROYECCIONES

La NLR podría resultar muy útil en el seguimiento de pacientes con AR, siendo más representativo que la VHS como parámetro inflamatorio para esta enfermedad. A su vez se necesita evaluar su comportamiento en otros tratamientos, que son los más utilizados para el control de la AR, como son los FARMES.

También es primordial evaluar este parámetro en otras poblaciones, para poder establecer rangos de referencia, dando así una orientación al médico sobre la salud del paciente, y para observar distintas actividad de la AR.



## 9. GLOSARIO

**ACR:** Colegio Americano de Reumatología.

**Anti-CCP:** Anticuerpos anti-péptido citrulinado.

**APC:** Célula presentadora de antígeno.

**AR:** Artritis reumatoide.

**BCR:** Receptor de células B.

**CD:** Marcador de superficie.

**CEC:** Comité Ético Científico.

**CENABAST:** Central Nacional de Abastecimiento.

**CHCM:** Concentración de hemoglobina corpuscular media.

**DAS:** Índice combinado de la actividad de la enfermedad.

**DAS28:** Índice combinado de la actividad de la enfermedad considerando las 28 articulaciones diartroïdales.

**DAS28-PCR:** Índice combinado de la enfermedad con proteína C reactiva.

**DAS28-VHS:** Índice combinado de la enfermedad con velocidad de eritrosedimentación globular.

**ER:** Enfermedad Reumática.

**EULAR:** Liga Europea contra el Reumatismo.

**EVA:** Evaluación general de salud.

**FARMEs:** Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad.

**FR:** Factor Reumatoide.

**GES:** Garantías explícitas en salud.

**HCM:** Hemoglobina corpuscular media.

**HER:** Factor de crecimiento epidérmico humano.

**HGGB:** Hospital Guillermo Grant Benavente.

**HLA:** Molécula de histocompatibilidad.

**IFN-g:** Interferón-gamma.

**Ig:** Inmunoglobulina.

**IgG:** Inmunoglobulina G.

**IL:** Interleuquina.

**MINSAL:** Ministerio de Salud.

**NLR:** Relación Neutrófilo Linfocito.

**NK:** Natural *Killer*.

**PAD:** Enzima peptidilarginina deiminasa.

**PAMPs:** Patrones moleculares asociados a patógenos.

**PCR:** Proteína C reactiva.

**RA:** Rheumatoid arthritis.

**TCR:** Receptor de células T.

**TH:** Linfocito T *Helper*.



**TNF-a:** Factor de necrosis tumoral.

**VCM:** Volumen corpuscular medio.

**VIH:** Virus de inmunodeficiencia humana.

**VHS:** Velocidad de eritrosedimentación globular.

**VS:** *Versus*



## 10. BIBLIOGRAFÍA

Afani, A., Jiusán, L., Raby, P., Sitia, G., Puente, J., Sepúlveda, C., Lanza, P. (2006). Restauración de la inmunidad innata en pacientes con infección por VIH/SIDA después de inicio de terapia antirretroviral. *Revista Médica de Chile*, 134(6), 689–696. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872006000600003>

Álvarez, A., Barrera, M., Blasco, J., & Serrer, E. (2013). Adalimumab versus etanercept en el tratamiento de la artritis reumatoide: Análisis coste-efectividad. *Farmacia Hospitalaria*, 37(4), 286–294. <https://doi.org/10.7399/FH.2013.37.4.593>

*American College of Rheumatology, Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 Update (2002) Arthritis Care & Research*. Vol. 46, N°2, Pág. 328–46le.

Amezcu-Guerra, L., Del Villar, R., & Parra, R. (2007). Proteína C reactiva: Aspectos cardiovasculares de una proteína de fase aguda. *Archivos de Cardiología de México*, 77(1), 58–66.

Azab, B., Camacho-Rivera, M., & Taioli, E. (2014). Average values and racial differences of neutrophil lymphocyte ratio among a nationally representative sample of United States subjects. *PLoS ONE*, 9(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112361>

Barbieri, G., Flores, J., & Vignoletti, F. (2005). El neutrófilo y su importancia en la enfermedad periodontal. *Avances En Periodoncia e Implantología Oral*, 17(1), 11–16. <https://doi.org/10.4321/s1699-65852005000100002>

Belmonte, M. (2008). ¿Es la puntuación DAS28 el método más adecuado para estimar la actividad de la artritis reumatoide? Consideraciones clinimétricas y escenarios de simulación. *Reumatología Clínica*, 4(5), 183–190. [https://doi.org/10.1016/S1699-258X\(08\)72462-8](https://doi.org/10.1016/S1699-258X(08)72462-8)

Beltran, B., Malaga, J., Chavez, J., Sotomayor, E., & Castillo, J. (2015). The Neutrophil-Lymphocyte Ratio Is a Prognostic Marker in Patients with EBV-Positive Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Blood*, 126(23), 5047. <https://doi.org/10.1182/blood.v126.23.5047.5047>

Bertha, G. (2008). Inmunidad natural o innata. *Revista de La Facultad de Medicina (México)*, 51(4), 171–172.

Blumenreich, M. Chapter 153: *The White Blood Cell and Differential Count* (1990). *Clinical Methods*, 3rd edition. (n.d.).



- Boulos, D., Proudman, S., Metcalf, R., McWilliams, L., Hall, C., & Wicks, I. (2019). *The neutrophil-lymphocyte ratio in early rheumatoid arthritis and its ability to predict subsequent failure of triple therapy. Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 49(3), 373–376. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2019.05.008>
- Cael, C. (2012). *Anatomía Funcional*. Editorial Panamericana.
- Campuzano, G. (2010). Eritrosedimentación: réquiem para una prueba. *Medicina & Laboratorio*, 16(01–02), 11–40.
- Castillo, M., Ubago, R., Flores, S., & Beltrán, C. (2011). Terapias biológicas en el tratamiento de la artritis reumatoide. Eficacia y seguridad comparada entre diferentes agentes biológicos. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Retrieved from [www.juntadeandalucia.es/salud/orgdep/AETSA%0AIsBN](http://www.juntadeandalucia.es/salud/orgdep/AETSA%0AIsBN):
- Chandrashekara, S., Mukhtar Ahmad, M., Renuka, P., Anupama, K., & Renuka, K. (2017). *Characterization of neutrophil-to-lymphocyte ratio as a measure of inflammation in rheumatoid arthritis. International Journal of Rheumatic Diseases*, 20(10), 1457–1467. <https://doi.org/10.1111/1756-185X.13157>
- Departamento de Salud Pública, Escuela de Medicina, P. U., & Chile, C. de. (2008). Informe final: Estudio de Carga de enfermedad y carga atribuible.
- Gasllastegui, C., Bernárdez, B., Regueira, A., Dávila, C., & Leboreiro, B. (2002). *Inmunología. Revista de La Sociedad Española de Farmacología Hospitalaria*, 2(11), 1077–1106.
- Gutierrez-Polo, R. (2003). Osteoporosis inducida por glucocorticoides *Glucocorticoid induced osteoporosis*. *Anales Del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(3), 63–80.
- Guzmán, L., & Donaire, L. (2012). Visión general de la reumatología en Chile. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(4), 365–368. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(12\)70326-7](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(12)70326-7)
- Informe Beneficiarios Ley 20850- Ley Ricarte Soto, diciembre 2018. FONASA. (2018). Retrieved from <https://www.fonasa.cl/sites/fonasa/prestadores/convenios/ley-ricarte-soto>
- Koiwa, M., Goto, S., Takahashi, K., Kamada, T., Takai, S., & Nakamura, H. (2016). *Neutrophil/lymphocyte ratio in patients with rheumatoid arthritis treated with biological agents. Journal of Nippon Medical School*, 83(3), 118–124. <https://doi.org/10.1272/jnms.83.118>
- Kunkel, E., & Butcher, E. (2002). *Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. Immunity*, 16(1), 1–4. [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(01\)00261-8](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(01)00261-8)

Kwoh, K., Anderson, L., Greene, J., Johnson, D., O'Dell, J., Robbins, M., ... Yood, R. (2002). *Guidelines for the management of rheumatoid arthritis: 2002 update - American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines*. *Arthritis and Rheumatism*, 46(2), 328–346. <https://doi.org/10.1002/art.10148>

Lara, M., Chaves, C., Salvatierra, J., & Raya, E. (2011). Factores predictores de respuesta a terapias biológicas en la artritis reumatoide. *Reumatología Clínica*, 7(2), 141–144. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2010.11.004>

Lee, H., Kim, Y., Kim, G., Ahn, E., So, M., Sohn, D., & Lee, S. (2019). *Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratio as predictors of 12-week treatment response and drug persistence of anti-tumor necrosis factor- $\alpha$  agents in patients with rheumatoid arthritis: a retrospective chart review analysis*. *Rheumatology International*, 39(5), 859–868. <https://doi.org/10.1007/s00296-019-04276-x>

Lee, J., Kim, N., Na, S., Youn, Y., & Shin, C. (2018). *Reference values of neutrophil-lymphocyte ratio, lymphocyte-monocyte ratio, platelet-lymphocyte ratio, and mean platelet volume in healthy adults in South Korea*. *Medicine (United States)*, 97(26), 1–5. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011138>

Ley N° 20850. Diario Oficial de la República de Chile, Santiago, Chile, 6 de junio de 2015. <http://bcn.cl/1v7lo>.

Lozano, J. (2001). Artritis reumatoide (I): Etiopatogenia, sintomatología, diagnóstico y pronóstico. *OFFARM*, 20(8), 1–188.

Maldonado, G., Ríos, C., Paredes, C., Ferro, C., Intriago, M., Aguirre, C., Moreno, M. (2017). *Depresión en AR*, 4(2), 84–91. <https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2016.12.001>

Mendoza, U., & Alonso, M. (2015). *Rheumatoid factor. Association with atherogenic risk markers in rheumatoid arthritis patients*. *Revista Cubana de Reumatología*, 34(1), 151–157. Retrieved from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci%7B\\_%7Darttext%7B&%7Dpid=S1817-59962015000200009%7B&%7Dlang=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci%7B_%7Darttext%7B&%7Dpid=S1817-59962015000200009%7B&%7Dlang=pt)

Mercan, R., Bitik, B., Tufan, A., Bozbulut, U., Atas, N., Ozturk, M., ... Goker, B. (2016). *The Association Between Neutrophil/Lymphocyte Ratio and Disease Activity in Rheumatoid Arthritis and Ankylosing Spondylitis*. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 30(5), 597–601. <https://doi.org/10.1002/jcla.21908>

Mertoglu, C., & Gunay, M. (2017). *Neutrophil-Lymphocyte ratio and Platelet-Lymphocyte ratio as useful predictive markers of prediabetes and diabetes mellitus*. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, (1), 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2016.12.021>

Mimica, X., Camus, M., Acevedo, F., Ibáñez, C., Medina, L., Sánchez, C., ... Kalergis, A. (2016). *Neutrophil/lymphocyte ratio in complete blood count as a mortality predictor in breast cancer*. *Revista Médica de Chile*, 144(6), 691–696. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872016000600001>

Ministerio de Salud. Guía Clínica AUGE “Artritis Reumatoide”. Santiago: Minsal, 2013. Retrieved from <https://www.minsal.cl/sites/default/files/files/GPC%20Artritis.pdf>

Oliva-Gutiérrez, E., Martínez-Godoy, M., Zapata-Zúñiga, M., & Sánchez-Rodríguez, S. (2012). Artritis Reumatoide: Prevalencia, inmunopatogenia y antígenos relevantes para su diagnóstico. *Archivos de Medicina*, 8(1). <https://doi.org/10.3823/084>

Olivares, E., Hernández, D., Núñez-Álvarez, C., & Cabiedes, J. (2011). Proteínas citrulinadas en artritis reumatoide. *Reumatología Clínica*, 7(1), 68–71. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2009.09.010>

Ortiz, A., & Laffon, A. (2000). Artritis reumatoide. formas de comienzo. manifestaciones clínicas músculo-esqueléticas. secuelas. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 8(27), 1372–1378. [https://doi.org/10.1016/s0304-5412\(00\)70266-6](https://doi.org/10.1016/s0304-5412(00)70266-6)

Panizio, C. Ortuño, F. Interpretación básica de las pruebas de laboratorio de hematología (2009). Asociación española de Hematología y Hemostasia. Editorial acción médica, capítulo 2.

Protocolo Artritis Reumatoide – Ley 20.850 PROTOCOLO 2018. Tratamiento con Etanercept o Abatacept o Adalimumab o Rituximab en adultos con Artritis Reumatoide Activa Refractaria al Tratamiento Habitual. – Ministerio de Salud 2018. Retrieved from <https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2018/03/Protocolo-Artritis-Reumatoide.pdf%0A>

Protocolo Artritis Reumatoide – Ley 20.850 PROTOCOLO 2019 Tratamiento con Etanercept o Abatacept o Adalimumab o Golimumab o Tocilizumab o Tofacitinib o Rituximab en personas con Artritis Reumatoide Activa Refractaria a Tratamiento Habitual. Ministerio De Salud. Retrieved from [https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2019/03/10\\_Protocolo-AReumatoide.pdf](https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2019/03/10_Protocolo-AReumatoide.pdf)

Puig, M., Ferreiro, R., Castaño, S., & Clara, M. (2011). Fisiopatología, tratamiento y modelos experimentales de artritis reumatoide. *Revista Cubana de Farmacia*, 45(2), 297–308.


Retamales, E. (2013). Recomendaciones Para La Interpretación del hemograma.


- Rincón-Vásquez, N., Jaramillo-Arbeláez, P., & Llanos-Albornoz, C. (2017). Morfología e inmunofenotipo de las células plasmáticas en el mieloma múltiple Morphology and immunophenotype of plasma cells in multiple myeloma. *Medicina & Laboratorio*, 23, 443–458.
- Smolen, J., Landewé, R., Breedveld, F., Buch, M., Burmester, G., Dougados, M., Van Der Heijde, D. (2014). EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 73(3), 492–509. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2013-204573>
- Templeton, A., McNamara, M., Šeruga, B., Vera-Badillo, F., Aneja, P., Ocaña, A., Amir, E. (2014). Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*, 106(6). <https://doi.org/10.1093/jnci/dju124>
- Toche, P. (2012). Visión panorámica del sistema inmune. *Revista Clínica Las Condes*, 23(4), 446–457.
- Tornero, J., Sanmartí, R., Rodríguez, V., Martín, E., Marenco, J., González, I., Loza, E. (2010). Update of the Consensus Statement of the Spanish Society of Rheumatology on the management of biologic therapies in rheumatoid arthritis. *Reumatología Clínica*, 6(1), 23–36. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2009.10.006>
- Torrens, M. (2015). *Cell Blood Count Clinical Interpretation*. *Revista Clínica Las Condes*, 26(6), 713–725. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2015.11.001>
- Wainstein, E. (2012). Laboratorio en reumatología. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(4), 371–376. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(12\)70327-9](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(12)70327-9)
- Yaschenko, L. (1977). Changes of phagocytizing and lymphoid elements in obstructive pneumonia (Russian). *Byulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsiny*, 83(5), 620-622.
- Zipfel, P. (2009). Complement and immune defense: From innate immunity to human diseases. *Immunology Letters*, 126(1–2), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2009.07.005>

## 11. ANEXOS

### Nº1 Consentimiento Informado proyecto “Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340”

 **Universidad de Concepción**

 **UNIVERSIDAD ACREDITADA**  
6 AÑOS 1 HASTA NOVIEMBRE 2022  
DOCENCIA PREGRADO - DOCENCIA POSTGRADO  
INVESTIGACIÓN - VINCULACIÓN CON EL MEDIO  
GESTIÓN INSTITUCIONAL

 **Facultad de Farmacia**

**INFORMACION AL PARTICIPANTE**  
**GRUPO DE ESTUDIO: SUJETOS CONTROLES**

**TITULO DEL ESTUDIO**  
**Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340 del gen PADI4 relacionado con la severidad de la enfermedad en pacientes con Artritis Reumatoide**

**Investigador Responsable:** Dra. Liliana Lamperti Fernández (Bioquímico UdeC)  
**Equipo de investigación**  
**Patrocinante:** Dra. Liliana Lamperti Fernández (Bioquímico UdeC)  
**Docente Guía:** Dra. Andrea Sánchez Rubio (Bioquímico UdeC)  
**Médico reumatólogo:** Dra. Irene Castro Esparza (Especialista en Reumatología del Policlínico de Reumatología, del Hospital Guillermo Grant Benavente)  
**Estudiante tesista:** Camila Véjar Cisterna (Alumno Tesista Bioquímica egresada UdeC)  
**Centro de Investigación:** Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología. Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción y Laboratorio Clínico Prevegen.  
**Teléfono de contacto Investigador Responsable:** 9-76343016

**INTRODUCCIÓN**  
Estimado(a) señor(a), deseamos invitarlo a participar en este estudio, el cual medirá la presencia de una pequeña variación de un gen que afecta a una molécula que participa en el desarrollo de la Artritis Reumatoide. Esta pequeña variación en algunos individuos no tiene ningún efecto y en otros puede aumentar la inflamación y complicaciones de la Artritis Reumatoide. Luego de explicar a Ud. en qué consiste el trabajo y aclarar cualquier duda que tenga respecto a ello, será invitado a participar libre y voluntariamente en esta investigación.

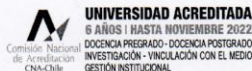
**FUNDAMENTO**  
El objetivo del estudio es conocer si las pequeñas variaciones del gen están presentes en pacientes chilenos con Artritis Reumatoide y si su presencia tiene alguna relación con Artritis Reumatoide más severa en comparación con pacientes con Artritis Reumatoide estable y bien controlada. La Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción realiza el patrocinio académico para el desarrollo de la tesis de la licenciada Srta. Camila Véjar, egresada de la carrera de Bioquímica de la Universidad de Concepción. También participan de este estudio, la Dra. Irene Castro del Policlínico de Reumatología del Servicio de Medicina Interna del Hospital Guillermo Grant Benavente de Concepción y el Laboratorio Clínico Prevegen de Concepción.

**RAZÓN POR LA QUE SE INVITA A LA PERSONA PARTICIPAR.**  
Este estudio busca entender mejor por qué algunos pacientes con Artritis Reumatoide desarrollan una enfermedad autoinmune más severa y otros mantienen una enfermedad estable y de inflamación baja o moderada. Al participar, nos ayudará a conocer la frecuencia de estas variaciones en población sana.

Versión y fecha de Protocolo: Versión 4-1, 8/08/2017.  
Centro investigación: Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología. Facultad Farmacia, Universidad de Concepción. Investigador responsable: Dra. Liliana Lamperti F.  
Iniciales del participante.....



1



### **PARTICIPACIÓN Y RETIRO VOLUNTARIO**

Su participación en esta investigación es totalmente libre y voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. También, puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes. No participarán menores de edad, embarazadas, mujeres en período de lactancia, ni pacientes en riesgo de vulnerabilidad según ley 20.584, artículo 28.

Los datos personales y consentimiento informado serán mantenidos bajo custodia en manos del investigador responsable. En el caso de la muestra de sangre, será almacenada por un período de 3 años y luego serán eliminadas según las normas establecidas por MATPEL y las muestras que contienen los genes, serán conservadas por un período de 5 años en el Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología de la Universidad de Concepción, para la posible evaluación de otras variaciones relacionadas con la Artritis Reumatoide. Aunque usted haya participado una primera vez, usted será libre de poder decidir si quiere volver a contribuir con el uso de su muestra de sangre que contiene sus genes para otro estudio. En el caso de que vuelva a aceptar, se le solicitará firmar un nuevo consentimiento informado.

### **DISEÑO DEL ESTUDIO**

Participarán en el estudio, un grupo de personas diagnosticadas con Artritis Reumatoide que actualmente están en seguimiento y/o reciben su tratamiento en el Policlínico de Reumatología del Hospital Guillermo Grant Benavente. Además, se incluirá en el estudio, un grupo de sujetos controles, al que Ud. está siendo invitado a participar de forma abierta en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción.

### **DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO**

Usted será citado una única vez, en común acuerdo con el investigador responsable, al Laboratorio Prevegen en Chacabuco 558 Concepción, para la toma de muestra de sangre. Se recolectarán dos tubos de 5 mL (2 cucharadas de té), además, se medirá su peso, talla, circunferencia de cintura y presión arterial por una enfermera capacitada. La muestra de sangre obtenida será trasladada al Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción, lo cual será responsabilidad del equipo investigador. A partir de la muestra de sangre, se obtendrá el gen para estudiar la variación de la proteína que se relaciona con la Artritis Reumatoide.

### **NÚMERO DE PARTICIPANTES**

Se estudiarán 60 participantes controles que serán invitados de forma abierta con un afiche que se publicará en Facultad de Farmacia y entrarán en contacto con el investigador principal vía correo electrónico o vía telefónica. Además se reclutará una población de 160 pacientes con Artritis Reumatoide de forma libre y voluntaria del Hospital Guillermo Grant Benavente.

### **DURACIÓN ESPERADA**

Versión y fecha de Protocolo: Versión 4-1, 8/08/2017.  
Centro investigación: Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología. Facultad Farmacia, Universidad de Concepción. Investigador responsable: Dra. Liliana Lamperti F.  
Iniciales del participante.....





UNIVERSIDAD ACREDITADA  
6 AÑOS | HASTA NOVIEMBRE 2022  
DOCENCIA PREGRADO - DOCENCIA POSTGRADO  
INVESTIGACIÓN - VINCULACIÓN CON EL MEDIO  
GESTIÓN INSTITUCIONAL



La investigación tendrá una duración aproximada de 12 meses en total. El reclutamiento será desde los meses de agosto a diciembre y sus resultados se entregarán en Enero de 2018.

#### **BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACION**

Al participar de esta investigación, no se le solicitará interrumpir ningún tratamiento médico ni afectará cualquier atención médica que Ud. reciba el día de la toma de muestra. Ud. conocerá los resultados de esta investigación y podrá aclarar todas las dudas que tenga con el investigador responsable.

No existe ningún riesgo para la salud, ya que en este estudio no se administrará ningún medicamento o realizará algún procedimiento que pueda significar riesgo para usted.

El procedimiento para la toma de muestra de sangre se realizará por una enfermera con sistema de tubos llenados al vacío y aguja estéril, por punción en la vena de su brazo. Los riesgos potenciales o molestias en el procedimiento corresponden a las propias de una toma de muestra, en donde en algunos casos Ud. podrá sentir un pequeño ardor al momento de la punción o en algunos casos Ud. podrá tener un pequeño sangrado que cesará a los pocos minutos y casualmente se pueden producir un pequeño moretón que desaparecerá a los pocos días. Ud. será atendido por la enfermera, dentro de las 48 hrs, si tiene molestias a causa de la punción venosa.

#### **RESPONSABILIDADES DEL SUJETO**

Usted no tendrá ningún tipo de responsabilidad con el estudio. Su única responsabilidad será informar si es que decide dejar de participar en la investigación informando al investigador principal, Liliana Lamperti a su correo electrónico o teléfono celular.

#### **TERMINO ANTICIPADO**

Usted no está obligado a ser parte de esta investigación si no desea hacerlo. Puede suspender su participación en el estudio en cualquier momento que quiera y eso no le afectará en ningún aspecto. Es su elección y todos sus derechos serán respetados.

#### **COMPENSACIÓN**

Se compensará el valor de la movilización de ida y vuelta para el día citado a la toma de muestra en el laboratorio Prevegen, los que corresponderán a \$1000 y que alcanzan a cubrir dicho ítem según los valores del transporte concesionado del Gran Concepción (se solicita presentar los pasajes).

#### **CONFIDENCIALIDAD**

Este estudio es totalmente confidencial, es decir, no se utilizarán sus datos personales. El investigador responsable velará por la confidencialidad de los resultados, manteniéndolos en lugar privado, en una planilla Excel en el computador de la investigadora principal en Facultad de Farmacia, donde su identificación personal será reemplazada por un código numérico interno que sólo conocerá el investigador responsable. Todas las muestras serán procesadas con este código y nunca aparecerá su nombre mencionado en presentaciones de estos resultados en congresos o en publicaciones. Este estudio tendrá la aprobación del Comité Ético Científico del Servicio de Salud Concepción.

Versión y fecha de Protocolo: Versión 4-1, 8/08/2017.

Centro investigación: Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología. Facultad Farmacia,

Universidad de Concepción. Investigador responsable: Dra. Liliana Lamperti F.

Iniciales del participante.....





#### COMUNICACIÓN DE RESULTADOS

Una vez terminado el plazo completo de la investigación, el investigador principal lo citará para la entrega y explicación del resultado en las dependencias de la Facultad de Farmacia.

Los datos obtenidos se utilizarán sólo para efectos del estudio y además de difusión científica de los resultados, ya sea en congresos o publicaciones.

#### SEGUROS

No existe mayor riesgo en la toma de muestra de sangre, por lo cual no se considerará ningún tipo de seguro asociado al estudio.

#### PATOLOGIAS GES

En esta investigación no se administrará ningún fármaco ni se modificará ninguna terapia. Tampoco se verán afectadas las prestaciones GES/AUGE a las que usted tiene derecho, si fuesen requeridas el día de la toma de muestra de sangre.

#### CONTACTO PARA EMERGENCIAS/CONTACTO CON CEC

Si Ud. desea tener más información o aclarar sus dudas con los responsables de esta investigación, los datos son los siguientes:

- Dra. Liliana Lamperti, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. Teléfono 41-2203858, celular 76343016, e-mail: llampert@udec.cl
- Dra Irene Castro, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. Teléfono 41-2203448, e-mail: ircastro@udec.cl
- Camila Vejar C., Alumna Tesista de Bioquímica, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. Teléfono 41-2204439, celular 81365678, e-mail: camilavejar@udec.cl

Para las preguntas relacionadas con los derechos como sujeto de investigación, o quejas relacionadas con el estudio de investigación, incluir datos de contacto del CEC: Dra. María Antonia Bidegain S., Presidente del Comité Ético Científico del Servicio de Salud Concepción, ubicado en San Martín 1436, Concepción, al teléfono 41 - 2722745.

Versión y fecha de Protocolo: Versión 4-1, 8/08/2017.  
Centro investigación: Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología. Facultad Farmacia,  
Universidad de Concepción. Investigador responsable: Dra. Liliana Lamperti F.  
Iniciales del participante.....







**UNIVERSIDAD ACREDITADA**  
6 AÑOS 1 HASTA NOVIEMBRE 2022  
DOCENCIA PREGRADO - DOCENCIA POSTGRADO  
INVESTIGACIÓN - VINCULACIÓN CON EL MEDIO  
GESTIÓN INSTITUCIONAL

Facultad  
de Farmacia



**HOJA DE FIRMAS CONSENTIMIENTO INFORMADO**  
**SUJETO CONTROL**

**TITULO DEL ESTUDIO: "Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340 del gen PADI4 relacionado con la severidad de la enfermedad en pacientes con Artritis Reumatoide"**

He leído la información proporcionada anteriormente por escrito en este documento. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento libre y voluntariamente ser parte de esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento, sin que me afecte en ninguna manera mi calidad de persona natural. Declaro que se me ha entregado una copia firmada y fechada de este documento.

**Procedimiento a realizar: toma de muestra de sangre venosa**

Nombre del participante (en letra imprenta)	Firma del participante	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
---	------------------------	--------------------------------

Yo, el que suscribe, Liliana Lamperti Fernández, confirmo que he entregado verbalmente la información necesaria acerca del estudio, que he contestado toda duda adicional y que no ejercí presión alguna para que el participante ingrese al estudio.

Declaro que procedí en completo acuerdo con los principios éticos descritos en las Directrices de GCP (Buenas Prácticas Clínicas) y otras leyes nacionales e internacionales vigentes.

Se le proporcionará al voluntario una copia de esta información escrita y de la hoja de firmas del consentimiento firmado.

Nombre de la persona que solicita el consentimiento (en letra imprenta)	Firma del solicitante	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
---	-----------------------	--------------------------------

Nombre del encargado de la institución	Firma del encargado de la institución	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
--	---------------------------------------	--------------------------------

Versión y fecha de Protocolo: Versión 4-1, 8/08/2017.  
Centro investigación: Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología. Facultad Farmacia, Universidad de Concepción. Investigador responsable: Dra. Liliana Lamperti F.  
Iniciales del participante.....

# Nº2 Consentimiento informado Prevegen para sujetos controles.

	
<b>INFORMACION AL PARTICIPANTE</b> <b>GRUPO DE ESTUDIO: PACIENTES</b>	
<b>TITULO DEL ESTUDIO</b> <b>Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340 del gen PAD14 relacionado con la severidad de la enfermedad en pacientes con Artritis Reumatoide</b>	
<b>Investigador Responsable:</b> Dra. Liliana Lamperti Fernández (Bioquímico UdeC) <b>Equipo de Investigación</b> <b>Patrocinante:</b> Dra. Liliana Lamperti Fernández (Bioquímico UdeC) <b>Docente Guía:</b> Dra. Andrea Sánchez Rubio (Bioquímico UdeC) <b>Médico reumatólogo:</b> Dra. Irene Castro Esparza (Especialista en Reumatología del Policlínico de Reumatología, del Hospital Guillermo Grant Benavente) <b>Estudiante tesista:</b> Camila Véjar Cisterna (Alumna Tesista Bioquímica egresada UdeC) <b>Centro de Investigación:</b> Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción y Laboratorio Clínico Prevegen. <b>Teléfono de contacto Investigador Responsable:</b> 9-76343016	
<b>INTRODUCCIÓN</b> Estimado(a) señor(a), deseamos invitarlo a participar en este estudio, el cual medirá la presencia de una pequeña variación de un gen que afecta a una molécula que participa en el desarrollo de la Artritis Reumatoide. Esta pequeña variación en algunos individuos no tiene ningún efecto y en otros puede aumentar la inflamación y complicaciones de la Artritis Reumatoide. Luego de explicar a Ud. en qué consiste el trabajo y aclarar cualquier duda que tenga respecto a ello, será invitado a participar libre y voluntariamente en esta investigación.	
<b>FUNDAMENTO</b> El objetivo del estudio es conocer si las pequeñas variaciones del gen están presentes en pacientes chilenos con Artritis Reumatoide y si su presencia tiene alguna relación con Artritis Reumatoide más severa en comparación con pacientes con Artritis Reumatoide estable y bien controlada. La Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción realiza el patrocinio académico para el desarrollo de la tesis de la licenciada Sra. Camila Véjar, egresada de la carrera de Bioquímica de la Universidad de Concepción. También participan de este estudio, la Dra. Irene Castro del Policlínico de Reumatología del Servicio de Medicina Interna del Hospital Guillermo Grant Benavente de Concepción y el Laboratorio Clínico Prevegen de Concepción.	
<b>RAZÓN POR LA QUE SE INVITA A LA PERSONA PARTICIPAR.</b> Este estudio busca entender mejor por qué algunos pacientes con Artritis Reumatoide desarrollan una enfermedad autómune más severa y otros mantienen una enfermedad estable y de inflamación baja o moderada. Al participar, nos ayudará a comprender estas	
Versión#Fecha#Protocolo:Versión#-0,3/08/2017.# Centro#Investigación:#Dpto.#Bioquímica#Clínica#Inmunología.#Facultad#Farmacia.# Universidad#de#Concepción.#Investigador#Responsable:#Dra.#Liliana#Lamperti#.# Iniciales#del#participante:#.#	
	
<b>DURACION ESPERADA</b> La investigación tendrá una duración aproximada de 12 meses en total. El reclutamiento será desde los meses de agosto a diciembre y sus resultados se entregarán en Enero de 2018.	
<b>BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACION</b> Si usted decide participar voluntariamente, no tendrá ningún cambio en su tratamiento ni en la atención que recibe en el policlínico de Reumatología. Ud. conocerá los resultados de esta investigación a través de su médico tratante y podrá consultar todas las dudas que tenga las veces que sea necesario con su médico o el investigador responsable. No existe ningún riesgo para la salud, ya que en este estudio no se administrará ningún medicamento o realizará algún procedimiento que pueda significar riesgo para usted. El procedimiento para la toma de muestra de sangre se realizará por una enfermera con sistema de tubos llenados al vacío y aguja estéril, por punción en la vena de su brazo. Los riesgos potenciales o molestias en el procedimiento corresponden a las propias de una toma de muestra, en donde en algunos casos Ud. podrá sentir un pequeño ardor al momento de la punción o en algunos casos Ud. podrá tener un pequeño sangrado que cesará a los pocos minutos y casualmente se pueden producir un pequeño moretón que desaparecerá a los pocos días. Ud. será atendido por la enfermera, dentro de las 48 hrs, si tiene molestias a causa de la punción venosa.	
<b>RESPONSABILIDADES DEL SUJETO</b> Usted no tendrá ningún tipo de responsabilidad con el estudio. Su única responsabilidad será informar si es que decide dejar de participar en la investigación informando al investigador principal, Liliana Lamperti a su correo electrónico o teléfono celular.	
<b>TERMINO ANTICIPADO</b> Usted no está obligado a ser parte de esta investigación si no desea hacerlo. Puede suspender su participación en el estudio en cualquier momento que quiera y eso no le afectará en ningún aspecto. Es su elección y todos sus derechos serán respetados.	
<b>COMPENSACION</b> Se compensará el valor de la movilización de ida y vuelta para el día citado a la toma de muestra en el laboratorio Prevegen, los que corresponden a \$1000 y que alcanzan a cubrir dicho ítem según los valores del transporte concesionado del Gran Concepción (se solicita presentar los pasajes).	
<b>CONFIDENCIALIDAD</b> Este estudio es totalmente confidencial, es decir, no se utilizarán sus datos personales, sólo se accederá a datos de la ficha clínica relacionados sólo con Artritis Reumatoide y esto lo realizará su médico tratante. El investigador responsable velará por la confidencialidad de los datos, manteniendo los datos clínicos y los resultados del análisis de la variación del gen en lugar privado, en una planilla Excel en el computador de la investigadora principal en Facultad de Farmacia, donde su identificación personal será reemplazada por un código numérico interno que sólo conocerá el investigador responsable. Todas las muestras serán procesadas con este código y nunca aparecerá su nombre mencionado en presentaciones de estos resultados en congresos o en	
publicaciones. Este estudio tendrá la aprobación del Comité Ético Científico del Servicio de Salud Concepción.	
<b>COMUNICACIÓN DE RESULTADOS</b> Una vez terminado el plazo completo de la investigación, para el caso de los pacientes, se les entregará mediante su médico, un informe con los resultados de la evaluación genética, los cuales se anexarán a su historial clínico. Los datos obtenidos se utilizarán sólo para efectos del estudio y además de difusión científica de los resultados, ya sea en congresos o publicaciones.	
<b>SEGUROS</b> No existe mayor riesgo en la toma de muestra de sangre, por lo cual no se considerará ningún tipo de seguro asociado al estudio.	
<b>PATOLOGIAS GES</b> En esta investigación no se administrará ningún fármaco ni se modificará la terapia para la Artritis Reumatoide. Tampoco se verán afectadas las prestaciones GES/AUGE a las que usted tiene derecho. Su atención y controles en el Policlínico de Reumatología del Hospital Guillermo Grant Benavente no se verán afectados de ninguna manera por la participación en el estudio.	
<b>CONTACTO PARA EMERGENCIAS/CONTACTO CON CEC</b> Si Ud. desea tener más información o aclarar sus dudas con los responsables de esta Investigación, los datos son los siguientes: <ul style="list-style-type: none"><li>□ Dra. Liliana Lamperti, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. Teléfono 41-2203858, celular 76343016, e-mail: llampert@udec.cl</li><li>□ Dra Irene Castro, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Concepción. Teléfono 41-2203448, e-mail: ircastro@udec.cl</li><li>□ Camila Véjar C., Alumna Tesista de Bioquímica, Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia, Universidad de Concepción. Teléfono 41-2204439, celular 81365678, e-mail: camilavejar@udec.cl</li></ul>	
Para las preguntas relacionadas con los derechos como sujeto de investigación, o quejas relacionadas con el estudio de investigación, incluir datos de contacto del CEC: Dra. María Antonia Bidegáin S., Presidente del Comité Ético Científico del Servicio de Salud Concepción, ubicado en San Martín 1436, Concepción, al teléfono 41 - 2722745.	
diferencias del cuadro clínico de autoinmunidad y así poder entregar información de utilidad para el médico tratante de su enfermedad.	
<b>PARTICIPACIÓN Y RETIRO VOLUNTARIO</b> Su participación en esta investigación es totalmente libre y voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. También, puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes. No participarán menores de edad, embarazadas, mujeres en período de lactancia, ni pacientes en riesgo de vulnerabilidad según ley 20.584, artículo 28. Los datos personales, datos de ficha clínica, encuestas y consentimiento informado serán mantenidos bajo custodia en manos del investigador responsable. En el caso de la muestra de sangre, será almacenada por un período de 3 años y luego serán eliminadas según las normas establecidas por MATPEL y las muestras que contienen los genes, serán conservadas por un período de 5 años en el Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología de la Universidad de Concepción, para la posible evaluación de otras variaciones relacionadas con la Artritis Reumatoide. Aunque usted haya participado una primera vez, usted será libre de poder decidir si quiere volver a contribuir con el uso de su muestra de sangre que contiene sus genes para otro estudio. En el caso de que vuelva a aceptar, se le solicitará firmar un nuevo consentimiento informado.	
<b>DISEÑO DEL ESTUDIO</b> Participarán en el estudio, un grupo de personas diagnosticadas con Artritis Reumatoide que actualmente están en seguimiento y/o reciben su tratamiento en el Policlínico de Reumatología del Hospital Guillermo Grant Benavente. Además, se reclutará otro grupo de sujetos controles, que no presentan la enfermedad al momento de la toma de muestra y que serán reclutados de forma abierta en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción.	
<b>DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO</b> Se le solicitará que responderá dos encuestas de salud aplicadas por su médico: DAS-28 y HAQ. Además, se recopilarán datos clínicos de su ficha médica, que tienen relación con su enfermedad. Usted será citado una única vez, en común acuerdo, al Laboratorio Prevegen en Chacabuco 558 Concepción, para la toma de muestra de sangre. Se recolectarán dos tubos de 5 mL (2 cucharadas de té), además, se medirá su peso, talla, circunferencia de cintura y presión arterial por una enfermera capacitada. La muestra de sangre obtenida será trasladada al Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción, lo cual será responsabilidad del equipo investigador. A partir de la muestra de sangre, se obtendrá el gen que tiene la variación y que buscaremos relacionar con su enfermedad.	
<b>NÚMERO DE PARTICIPANTES</b> Se invitará a participar en este estudio de forma libre y voluntaria, a 160 pacientes adultos del Hospital Guillermo Grant Benavente diagnosticados con Artritis Reumatoide mayores de edad, no embarazadas ni en lactancia y sin riesgo de vulnerabilidad. Dichos pacientes serán evaluados por la Dra. Irene Castro, quien le explicará e invitará a participar.	
Versión#Fecha#Protocolo:Versión#-0,3/08/2017.# Centro#Investigación:#Dpto.#Bioquímica#Clínica#Inmunología.#Facultad#Farmacia.# Universidad#de#Concepción.#Investigador#Responsable:#Dra.#Liliana#Lamperti#.# Iniciales#del#participante:#.#	



**HOJA DE FIRMAS CONSENTIMIENTO INFORMADO**  
**PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE ARTRITIS REUMATOIDE**

**TITULO DEL ESTUDIO: “Desarrollo de la metodología analítica para determinar la variante del polimorfismo rs2240340 del gen PADI4 relacionado con la severidad de la enfermedad en pacientes con Artritis Reumatoide”**

He leído la información proporcionada anteriormente por escrito en este documento. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento libre y voluntariamente ser parte de esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento, sin que me afecte en ninguna manera mi calidad de persona natural. Declaro que se me ha entregado una copia firmada y fechada de este documento.

Procedimiento a realizar: toma de muestra de sangre venosa

Nombre del participante (en letra imprenta)	Firma del participante	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
---	------------------------	--------------------------------

Yo, el que suscribe, Liliana Lamperti Fernández, confirmo que he entregado verbalmente la información necesaria acerca del estudio, que he contestado toda duda adicional y que no ejercí presión alguna para que el participante ingrese al estudio.

Declaro que procedí en completo acuerdo con los principios éticos descritos en las Directrices de GCP (Buenas Prácticas Clínicas) y otras leyes nacionales e internacionales vigentes.

Se le proporcionará al voluntario una copia de esta información escrita y de la hoja de firmas del consentimiento firmado.

Nombre de la persona que solicita el consentimiento (en letra imprenta)	Firma del solicitante	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
---	-----------------------	--------------------------------

Nombre del encargado de la institución	Firma del encargado de la institución	Fecha de la firma (DD/MM/AAAA)
--	---------------------------------------	--------------------------------

Versión y fecha de Protocolo: Versión 4-0, 3/08/2017.  
 Centro de Investigación: Dpto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de Farmacia,  
 Universidad de Concepción. Investigador responsable: Dra. Liliana Lamperti  
 Iniciales del participante.....

### N°3 Registro de información presentada a CEC

Tabla REGISTRO DE INFORMACION proyecto 19-08-67

<b>Código interno proyecto</b>	AR-01			
<b>Fecha de Diagnostico</b>				
<b>Factor Reumatoide</b>				
<b>Anti- CCP</b>				
<b>Nombre de la Terapia Biológica</b>				
<b>Fecha tiempo</b>	menos 1 mes	0 mes	3 meses	6 meses
<b>DAS28-VHS</b>				
<b>Neutrófilos</b>				
<b>Linfocitos</b>				
<b>VHS</b>				
<b>Evaluación General</b>				
<b>Nº art dolorosas</b>				
<b>Nº articulaciones inflamadas</b>				

## N°4 Carta de aprobación del comité de ética de HGGB



UNIDAD DE INVEST. Y DESARROLLO.  
Of. N° 120 25.09.19

DRA MAB / mega

ORD. N° 004641 26.09.2019

Ant: Trabajo de Investigación  
Mat: Autorización Estudio.

Código 19-08-67

DE: ING. CARLOS CAPURRO DUPRE  
DIRECTOR HOSP.GMO.GRANT B.

A DRA. LILIANA LAMPERTI FERNANDEZ  
INVESTIGADORA RESPONSABLE

Junto con saludar, sírvase encontrar adjunto Acta de aprobación del Comité Ético Científico del Servicio de Salud Concepción, de fecha 24.09.19, en atención a la cual esta Dirección autoriza el desarrollo del estudio titulado; "Caracterización de parámetros inflamatorios fenotípicos de pacientes con artritis reumatoide en terapia biológica" responsabilidad como investigadora principal en este centro.

Cabe hacer mención, que el Consentimiento Informado que de acuerdo al artículo 11 de la ley 20.120 debe suscribirse, deberá constar en un acta firmada por el participante, por la persona que solicita el Consentimiento bajo la responsabilidad de la Dra. L.Lamperti F, investigadora responsable y por el Jefe Servicio de Medicina en quien esta Dirección, delega la facultad de actuar como ministro de fe y firmar los Consentimientos Informados referentes a este estudio, según consta en resolución adjunta.

El consentimiento deberá ser nuevamente solicitado cada vez que los términos o condiciones en que se desarrolle la investigación sufran modificaciones, salvo que éstas sean consideradas menores por los Comités Ético Científico que han aprobado este proyecto.

Saluda atentamente,



ING. CARLOS CAPURRO DUPRE  
DIRECTOR

HOSPITAL GUILLERMO GRANT BENAVENTE

Distribución  
DRA.LLF