

Enfermedades autoinmunes y el aporte de la citometría de flujo a su diagnóstico

Laura María Bautista Narváez

Ana María Correa Vivas

Monografía de grado para optar al título de Bacteriólogo y laboratorista clínico

Asesora Interna

Claudia Andrea Cruz Baquero

Asesora externa

Yovana María Pacheco Nieva

Docente Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca



Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico

Bogotá, DC

Tabla de contenido

1. Resumen	3
2. Introducción	4
3. Objetivos	5
3.1 Objetivo general.	5
3.2 Objetivos específicos.	5
4. Marco teórico	6
4.1 Concepto de autoinmunidad	6
4.2 Características de las enfermedades autoinmunes:	11
4.3 Artritis reumatoide	12
4.4 Lupus eritematoso sistémico	19
4.5 Tiroiditis de Hashimoto:	27
4.6 Seguimiento por citometría de flujo y valor pronóstico	32
4.7 La citometría de flujo y la artritis reumatoide	33
4.8 La citometría de flujo y el lupus eritematoso sistémico	36
4.9 La citometría de flujo y la tiroiditis autoinmune:	39
5. Metodología propuesta	45
6. Resultados esperados	47
7. Cronograma de actividades	48
8. Discusión	53
9. Referencias bibliográficas	55

1. Resumen

Unas de las enfermedades autoinmunes que más inciden en Colombia son la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y la tiroiditis autoinmune, las cuales pueden llegar a ser crónicas y de difícil manejo, por lo tanto es de gran importancia profundizar en la investigación de su diagnóstico con el fin de darle un manejo oportuno a las mismas, es por esto que el presente trabajo pretende analizar como la citometría de flujo puede aportar al diagnóstico de dichas enfermedades ya que en estas puede haber un aumento o disminución de diferentes marcadores celulares. Mediante una revisión bibliográfica se eligieron artículos científicos que aportaron información relacionada con estas enfermedades y la citometría de flujo, de esta manera se pudo evidenciar que, aunque hay algunos métodos diagnósticos descritos, estas pruebas por sí solas no permiten garantizar un perfil completo del paciente. Durante la revisión, se pudo demostrar que cada enfermedad expresa marcadores de líneas celulares específicas y ya que la citometría de flujo permite su análisis es prudente indagar y profundizar acerca de cómo esto podría significar un aporte al diagnóstico de las enfermedades autoinmunes, por esta razón se llegó a la conclusión de que la citometría de flujo es una técnica de análisis que puede aportar en el diagnóstico de estas enfermedades, por su sensibilidad y especificidad que permite la caracterización simultánea de poblaciones celulares que son de gran importancia en estas enfermedades¹.

Palabras clave: citometría de flujo, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, diagnóstico.

2. Introducción

Algunas de las EA más comunes en Colombia son la artritis reumatoide, la tiroiditis autoinmune, el lupus eritematoso sistémico, la diabetes tipo I y la esclerosis múltiple³. Las enfermedades autoinmunes afectan cerca del 3 a 5% de la población⁴, su diagnóstico requiere un conjunto de pruebas que por sí solas no permiten confirmar la presencia de la enfermedad, por esta razón, esta revisión bibliográfica pretende destacar a la citometría de flujo (CMF) como método diagnóstico de las enfermedades autoinmunes ya que incluye varios parámetros con medidas cualitativas y cuantitativas que permite obtener un resultado más específico y rápido de la enfermedad con un perfil más completo del estado del paciente⁵. Esto representaría un gran avance a nivel clínico porque permitiría el inicio de un tratamiento oportuno para mejorar la calidad de vida de estos pacientes y apoyar el trabajo de los profesionales de la salud encargados de realizar las diferentes pruebas que definen el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. De igual forma se benefician las personas con antecedentes familiares de padecer alguna Enfermedad Autoinmune (EA) y pacientes diagnosticados con alguna de estas patologías ya que la CMF les podría permitir tener claridad del estado y evolución de la enfermedad⁶.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general.

Establecer el papel fundamental de la citometría de flujo como apoyo diagnóstico de la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y la tiroiditis de Hashimoto.

3.2 Objetivos específicos.

Identificar las características más importantes de la autoinmunidad y su relevancia en la salud pública.

Describir los aspectos más importantes de la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y la tiroiditis de Hashimoto.

Determinar el aporte de la citometría de flujo en la detección de las enfermedades autoinmunes para obtener un diagnóstico más amplio.

4. Marco teórico

4.1 Concepto de autoinmunidad

Autoinmunidad: Falla de la tolerancia inmune

El sistema inmunológico protege al organismo de agentes extraños, reconociéndolos y produciendo una respuesta inmune frente a estos, evitando así las infecciones potenciales y erradicando de igual manera las ya establecidas⁷ sin embargo, esto no siempre funciona así. Desde principios del siglo XX, Paul Ehrlich advirtió sobre la falencia en el sistema inmunológico, describiendo un mecanismo de destrucción de otros órganos y/o sistemas por parte del sistema inmune. Así entonces, como hay mecanismos defensivos innatos y adquiridos, también existen respuestas inmunes que no protegen, sino que al contrario actúan de manera errónea y causan enfermedades o condiciones clínicas en las cuales el sistema inmune ataca los constituyentes propios del individuo⁸, es decir, que en vez de reaccionar sólo a antígenos extraños, el sistema inmunológico erróneamente reconoce como extraño a los tejidos, órganos y células propias del individuo, a esto, él lo denominó “horror autotóxico” que hoy conocemos como enfermedades autoinmunes^{9,10}. Las EA incluyen más de 70 diferentes desórdenes que afectan aproximadamente al 5% de la población de los países occidentales^{11,12}. Sus manifestaciones son muy variables en términos de tejidos afectados, edad de aparición y respuesta a tratamientos inmunosupresores. Es importante destacar el papel de la respuesta humoral y celular hacia el tejido afectado, por esto se puede afirmar que estas enfermedades son el resultado de una compleja interacción entre factores inmunológicos, genéticos y ambientales, de los cuales la mayoría aún no han sido identificados¹³.

Se pueden detectar un gran número de anticuerpos contra estructuras funcionales de la célula (ácido nucleico, moléculas nucleares, receptores, entre otras que se mencionarán más adelante.) en las enfermedades autoinmunes y su presencia juega un papel fundamental en la fisiopatología, el diagnóstico y la clasificación de esta clase de desórdenes. Muchos estudios afirman que una persona puede mantener estos anticuerpos durante muchos años antes de que empiece a manifestar síntomas esto es gracias a que estos anticuerpos guardan relación con la enfermedad, pero no hay una línea de tiempo; detectar estos anticuerpos en el suero del paciente representa un importante valor diagnóstico¹⁰.

Autoinmunidad y tolerancia:

El sistema inmunológico es capaz de diferenciar los antígenos propios de aquellos extraños que pueden producir daño, es indispensable que el sistema inmune primero reconozca los constituyentes propios del organismo para que pueda reconocer aquello que es extraño o ajeno a él. Las enzimas específicas de la familia RAG ensamblan y recombinan genes de manera aleatoria para formar receptores de antígenos que se encuentran sobre los linfocitos T y B (TCR y BCR), que reconocen específicamente al epítipo antigénico^{7,13}, de esta manera se genera una enorme diversidad de receptores capaces de reconocer diferentes antígenos, tanto propios como extraños, para poder reaccionar contra cualquiera de ellos con alta especificidad, la codificación de las regiones variables de los TCR o BCR tiene múltiples versiones y los precursores de los linfocitos pueden escoger aleatoriamente una de estas, este fenómeno se denomina recombinación somática y consiste en el reordenamiento del ADN de tal manera que sólo una versión final de las múltiples posibles sea expresada. Las enzimas encargadas de esta reorganización son las RAG1 y RAG2 que se expresan solamente en el desarrollo de los linfocitos inmaduros, una vez que estos han madurado y salen a periferia los receptores no volverán a cambiar ya que las enzimas RAG son inhibidas, logrando así que cada célula T y B exprese un único TCR y BCR respectivamente. Por esta razón existen mecanismos que suprimen la respuesta inmune frente a aquello que ya se conoce, esto es fundamental para mantener la integridad del organismo y cuando esto no ocurre se produce

lo que conocemos como autoinmunidad. La no respuesta frente a un antígeno se conoce como tolerancia y esta existe gracias al previo contacto frente a dicho antígeno, de esta manera se puede entender que la autotolerancia es la falta de respuesta a los antígenos propios del individuo, esta se consigue eliminando los precursores autoreactivos y permitiendo que se desarrollen células que reconozcan péptidos extraños, los mecanismos de autotolerancia se mencionarán más adelante ^{8,13-15}.

Los linfocitos tienen la posibilidad de inducir dos clases de respuesta o dos tipos de selección: La primera, positiva, cuando el linfocito reconoce lo extraño y comienza a trabajar para inactivar o eliminar ese antígeno y la segunda, negativa, en la cual se ha perdido dicha autotolerancia y los linfocitos responden frente a lo propio del individuo, esta pérdida provoca la aparición de enfermedades autoinmunes, por esta razón los linfocitos cuentan con mecanismos para realizar solamente una selección positiva, es decir, reconocer únicamente lo extraño ¹³⁻¹⁷. Actualmente existen dos tipos de autotolerancia los cuales se pueden observar en la tabla 1.

Tabla 1. Mecanismos de autotolerancia

Tolerancia	Mecanismo	Referencias
Central	<ul style="list-style-type: none"> ● Apoptosis ● Regulación ● Edición o modificación del receptor 	7,10,13,14,16
Periférica	<ul style="list-style-type: none"> ● Delección clonal ● Anergia ● Supresión mediada por linfocitos T ● Ignorancia inmunológica 	7,10,13,14,16

	<ul style="list-style-type: none"> ● Regulación 	
--	--	--

En la tabla 1 se diferencian los diferentes mecanismos de tolerancia central y periférica.

En esta tabla se pueden evidenciar los diferentes mecanismos de autotolerancia que se pueden encontrar en la tolerancia central y periférica.

Tolerancia central

La diferenciación y maduración de las células linfoides encargadas de la respuesta inmune adaptativa se produce en los órganos linfoides centrales (timo y médula ósea), es aquí donde los linfocitos adquieren sus características funcionales y su especificidad idiotípica. En primer lugar, encontramos los linfocitos T que maduran en el timo, estos pueden ser de tipo CD4 + y CD8 + y estos son los encargados de la respuesta celular y de producir citoquinas. Por otro, en la médula ósea maduran los linfocitos B que son responsables de la respuesta humoral y de la producción de anticuerpos ^{16,17}. Hay ciertos mecanismos que permiten que la tolerancia central se lleve a cabo correctamente, entre estos encontramos:

- **Apoptosis:** Es fundamental para mantener la homeostasis, controlar el desarrollo y activación de las células linfoides en órganos linfoides primarios y secundarios. En la autoinmunidad, es la muerte celular programada de linfocitos autorreactivos e inmaduros que reconocen con alta afinidad un antígeno propio, de esta manera se impide que maduren y salgan a circulación^{10,14,17}.
- **Regulación:** Es una supresión que regula, limita y previene por medio de los linfocitos T reguladores (CD4+CD25+FOXP3+) que se forman cuando las células T reconocen con moderada afinidad su TCR, estos linfocitos reciben una señal que les permite expresar Foxp3 y convertirse en un linfocito T regulador, de esta manera en la tolerancia central estos linfocitos pueden regular a las células T autorreactivas^{10,14,17,18}.

- **Edición o modificación del receptor:** Este mecanismo es mayormente utilizado por los linfocitos B cuando reconocen antígenos propios por medio de su BCR, el linfocito B cambia su especificidad cuando reconoce antígenos propios en la médula ósea, estos tienen la posibilidad de reemplazar su BCR autorreactivo por otro que solo reconozca antígenos extraños por medio de la recombinación genética, de lo contrario moriría por apoptosis, una vez se haya modificado el receptor se envía una señal de inhibición de la recombinación por medio de la enzima RAG ^{10,14,17,19}.

Tolerancia periférica

El conjunto de ganglios linfáticos, bazo y tejidos linfoides asociados a piel y a mucosas conforma los órganos linfoides periféricos, en los cuales hay una permanente recirculación de linfocitos a través de la circulación linfática y sanguínea^{10,16,20,21}. Debido a que las células T autorreactivas evadieron la selección negativa del timo y médula ósea, estas llegan maduras a realizar una tolerancia periférica preparadas para ser activadas^{5, 12}, en esta etapa intervienen una serie de mecanismos que ayudan a estos linfocitos a sólo realizar una selección positiva, entre estos encontramos:

- **Delección clonal:** Es una forma en que el linfocito T que reconoce antígenos propios se autodestruye. Las células T autorreactivas expresan Fas-L (fas-ligando) sobre ellas mismas cuando reconocen autoantígenos en los tejidos periféricos dando lugar a la apoptosis al unirse con el fas que co-expresan (Sistema fas-ligando Fas)^{10,20}.

- **Anergia:** Esta consiste en la incapacidad de respuesta o ausencia de reactividad funcional por parte de un linfocito una vez este ha sido estimulado por su antígeno específico, entonces, en el caso de los linfocitos T el efecto es una falta de producción de citoquinas y en los linfocitos B una falta de producción de anticuerpos. El linfocito entra en un estado inactivo hasta que recibe una estimulación adecuada, en algunos casos este estado puede ser irreversible^{10,20}.
- **Supresión mediada por los linfocitos T:** Es un proceso activo mediante el cual un factor externo (citoquinas, linfocitos u otras células) frenan la respuesta de una célula autorreactiva una vez esta es estimulada por el respectivo auto-antígeno. Cuando un autoantígeno estimula una célula autorreactiva, un factor externo como las citoquinas, linfocitos u otras células son capaces de detener la respuesta. Este proceso se lleva a cabo cuando los linfocitos T CD4 de tipo TH2 inhiben las funciones de las células autorreactivas de tipo TH1^{10,20}.
- **Regulación:** Su objetivo es prevenir y regular las respuestas inmunes autoagresivas en el sistema inmune mediante la secreción de citoquinas (TGF-BETA e IL-10) o por contacto directo célula a célula mediante la acción de los linfocitos T reguladores (CD4 +, CD25 +, Foxp3+)^{10,14,17}.

4.2 Características de las enfermedades autoinmunes:

- Dependiendo de donde se encuentren los autoantígenos que se reconozcan, las enfermedades autoinmunes pueden ser sistémicas como en el caso del lupus eritematoso sistémico o específicas de órganos como en la diabetes Tipo I y la esclerosis múltiple.
- Los inmunocomplejos, los autoanticuerpos circulantes y los linfocitos T autorreactivos son mecanismos efectores de la lesión tisular en diferentes EA.

- El curso de la respuesta autoinmune está determinado por las características clínicas y patológicas de cada enfermedad.
- Debido a que los autoantígenos que desencadenan las respuestas autoinmunes son persistentes activan mecanismos que amplifican la reacción, es por esto que las EA tiende a ser crónicas y progresivas²²⁻²⁵.

4.3 Artritis reumatoide

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune sistémica no órgano específica, causada por autorreactividad y por la presencia de autoanticuerpos: factores reumatoideos y anticuerpos antipéptidos cíclicos citrulinados. Esta enfermedad se caracteriza por la afectación simétrica e inflamatoria de múltiples articulaciones, la presentación de diversos síntomas generales inespecíficos y manifestaciones clínicas extraarticulares. En la mayoría de los casos es crónica, pero con un diagnóstico temprano y un tratamiento adecuado se puede lograr un buen control en los pacientes^{26,27}.

Factores hormonales, genéticos y ambientales intervienen en el inicio de la enfermedad, estos estimulan una respuesta inmune descontrolada que se expresa con una reacción inflamatoria exagerada principalmente en la membrana sinovial. La AR produce una inflamación de larga duración en las articulaciones diartrodiales, esto resulta en una poliartritis simétrica y en la hipertrofia de la membrana sinovial con daño progresivo de las articulaciones, huesos, así como también la destrucción y deformidad del cartílago^{26,27}.

Características de la enfermedad:

Los rasgos más característicos de la AR son la inflamación de la membrana sinovial y la destrucción progresiva del hueso y el cartílago articular, alteración estructural, dolor y limitación funcional, esta enfermedad se manifiesta comúnmente con rigidez y tumefacción

en diferentes articulaciones pequeñas y grandes. Cuando la enfermedad ya está establecida pueden haber manifestaciones extraarticulares, estas afectan principalmente la piel, los vasos sanguíneos, el corazón, los pulmones, los ojos y la sangre ²⁷⁻²⁹. La evolución de la AR es muy variable, en algunos pacientes las lesiones permanecen a lo largo de toda su vida mientras que en otros se puede detener de forma espontánea. Es muy común la presencia de articulaciones hinchadas, tumefactas y calientes que resultan dolorosas y con movilidad limitada. Cuando no hay un tratamiento oportuno existe un deterioro de la funcionalidad y la calidad de vida, acompañado de manifestaciones frecuentes y duraderas ocasionando que las articulaciones afectadas pierden progresivamente la movilidad al tiempo que se producen unas deformidades características²⁷⁻²⁹.

En cuanto a la relación de la AR y otros agentes patógenos, varios estudios han demostrado que los títulos de anticuerpos contra la *Proteus mirabilis* son mayores en los pacientes con AR que en pacientes sanos como consecuencia de la similitud entre la alfa-hemolisina, la ureasa y los autoepitopes característicos de la enfermedad. La mayoría de los pacientes con AR presentan anticuerpos contra proteínas que han sufrido una modificación postraduccional conocida como citrulinación, un proceso en el cual la enzima peptidil-arginina deaminasa convierte la arginina en citrulina²¹ proceso que también se ha evidenciado en la periodontitis causada por *Porphyromonas gingivalis* la cual produce esta misma enzima capaz de inducir la citrulinación, favoreciendo de esta manera la producción de anticuerpos contra proteínas citrulinadas, estos anticuerpos se depositan en el espacio sinovial provocando la inflamación y destrucción articular característica de la artritis reumatoide³⁰⁻³².

Epidemiología en Colombia

La artritis reumatoide es la enfermedad articular inflamatoria crónica más común, afectando aproximadamente al 1% de la población general ³³. La comorbilidad en pacientes con AR es frecuente, por lo que la discapacidad, el deterioro de la calidad de vida y la mortalidad prematura es dos veces mayor que la de la población en general ³⁴ Al cabo de 10 a 12 años de la enfermedad, cerca del 20% de los pacientes pueden presentar deformidad articular e

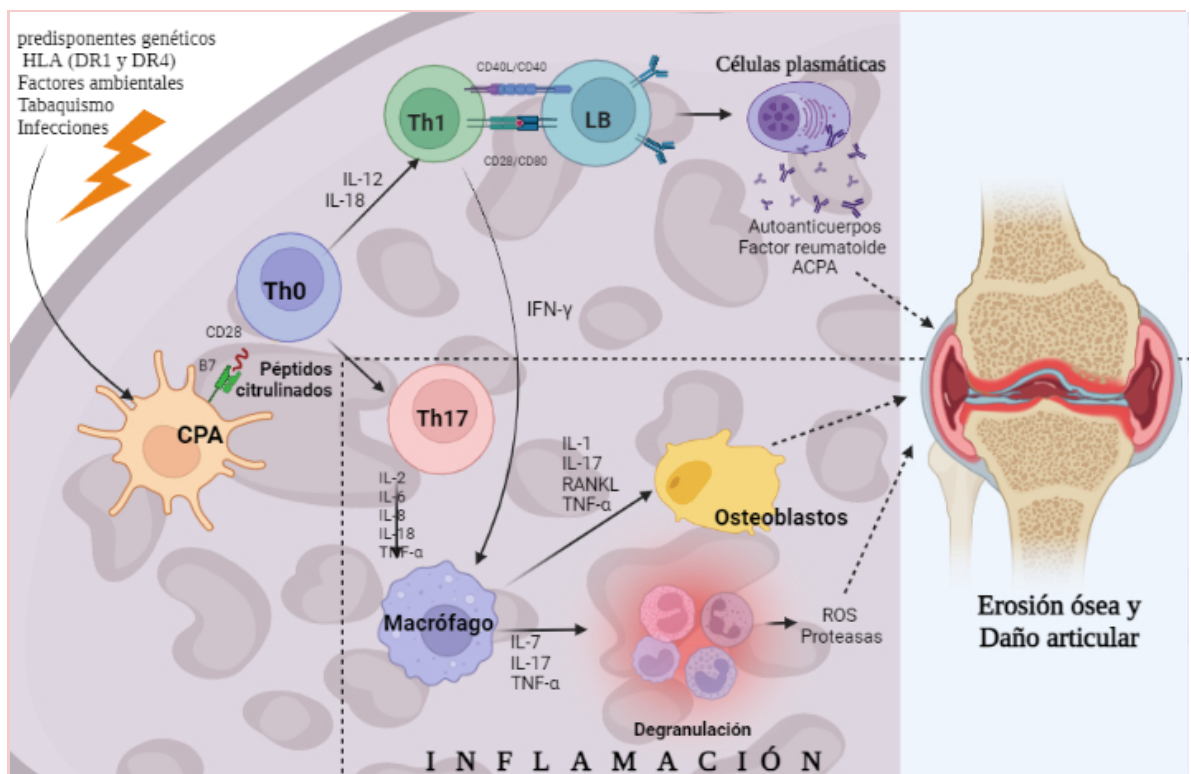
incluso incapacidad, sin embargo, es difícil predecir la evolución de la enfermedad en cada paciente ya que esta tiende a ser muy variable. La enfermedad tiene una distribución mundial que afecta a todas las razas, pero tiene menor prevalencia en países en desarrollo incluido América Latina, esta es más frecuente en mujeres que en hombres a razón de 7:1 entre los cuarenta y sesenta años aunque puede afectar a personas con mayor edad²⁹. Según el Sistema Integral de Información de la Protección Social del Ministerio de Salud, durante los años 2012-2016, en Colombia se identificaron 248.995 casos, lo que permite calcular una prevalencia en mayores de 18 años del 0,52%, de los cuales el 80,7% son mujeres, con una relación mujer: hombre de 4,2: 1, con mayor prevalencia entre el grupo etario de 70 a 74 años. Los departamentos con mayor número de casos entre los años 2012 y 2016 fueron: Bogotá D.C. (64.121), seguido de Antioquia (43.771); sin embargo, los departamentos con mayor prevalencia fueron Cesar (1,13%), Casanare (0,96%) y Risaralda (0,93%). Dentro de los factores predisponentes de la enfermedad se pueden encontrar: la edad, el sexo femenino, los antecedentes familiares a AR, lesiones articulares previas, infecciones con frecuencia por bacterias (*Proteus mirabilis*) o virus (Epstein-Barr), tabaquismo, estrés y obesidad^{29,34-36}.

Inmunopatología de artritis reumatoide:

La membrana sinovial normal por lo general es una estructura que contiene pocas células con una capa cercana al delgado espacio articular, en cambio, la membrana sinovial reumatoidea está infiltrada por células, entre las que se pueden destacar los linfocitos B, los linfocitos T CD4+ y los macrófagos que se encuentran organizados en agregados linfoides, muchas veces con centros germinales. El proceso inflamatorio es provocado principalmente por citoquinas proinflamatorias, quimiocinas y factores de crecimiento ocasionan diversas manifestaciones extraarticulares acompañadas de la destrucción del hueso subyacente y el cartílago. Una vez se desencadena la enfermedad, ya sea por predisponentes genéticos como el HLA (DR1 y DR4) y factores ambientales (tabaquismo y algunas veces por infecciones), los linfocitos T son activados por una célula presentadora de antígeno (CPA) desencadenando dos respuestas. La primera, por parte de los linfocitos Th17 secretores de la citoquina con mayor efecto

proinflamatorio: la interleuquina 17 (IL-17) y la IL-7 que provocan el reclutamiento de más células proinflamatorias. La segunda respuesta está mediada por linfocitos Th1 que producen IFN- γ que tienen como objetivo la activación de los macrófagos para que estos puedan producir TNF- α e IL-1. Estos macrófagos junto con los linfocitos B migran hacia las articulaciones ocasionando una acumulación de fluido en la articulación, una hiperplasia de la membrana sinovial una inflamación de la misma y como consecuencia una disminución de la movilidad entre otras manifestaciones características de la enfermedad que se describen en la tabla 3. El grado de inflamación no es el mismo en todos los pacientes, sin embargo, esta tiende a ser crónica y progresiva, llevando a la erosión ósea y daño articular³⁷⁻⁴⁰.

Figura 1. Inmunopatología Artritis Reumatoide



Fuente: Elaboración propia mediante el programa BioRender

Manifestaciones clínicas:

Tabla 2. Manifestaciones clínicas de la artritis reumatoide.

Manifestación clínica	Descripción	Referencias bibliográficas
Manifestaciones articulares	<ul style="list-style-type: none"> ● Inflamación de varias articulaciones de forma simétrica ● Sinovitis ● Rigidez matutina ● Inflamación precoz ● Tumefacción ● Desviación cubital ● Subluxación dorsal 	27,41
Manifestaciones hematológicas	<ul style="list-style-type: none"> ● Anemia normocítica y normocrómica ● Leucopenia ● Trombocitopenia ● Velocidad de sedimentación globular alterado ● Vasculitis 	29,41
Manifestaciones cutáneas	<ul style="list-style-type: none"> ● Úlceras ● Atrofia cutánea ● Dermatitis neutrofílica ● Eritema palmar ● Xerosis 	29,41
Manifestaciones pleuropulmonares	<ul style="list-style-type: none"> ● Pleuritis ● Nódulos pulmonares 	29,41

	<ul style="list-style-type: none"> ● Afectación bronquial ● Enfermedad pulmonar intersticial difusa ● Bronquiolitis obliterante con o sin neumonía organizada ● Nódulos pulmonares 	
Manifestaciones cardíacas	<ul style="list-style-type: none"> ● Pericarditis ● Dolor torácico ● Pleuritis ● Aortitis 	34,41
Manifestaciones neurológicas	<ul style="list-style-type: none"> ● Síndrome del túnel carpiano por compresión del nervio mediano ● Compresión brusca del nervio radial ● La mononeuritis múltiple ● La polineuropatía sensitivo-motora 	29,41
Afectaciones musculares	<ul style="list-style-type: none"> ● Miositis ● Necrosis muscular 	29,41

En la tabla 2, se nombran las manifestaciones clínicas que pueden estar presentes en un paciente con AR en los diferentes sistemas del cuerpo.

Pruebas diagnósticas:

El diagnóstico de la AR puede llegar a ser un poco difícil en etapas tempranas de la enfermedad, debido a que los signos y síntomas en este estadio son similares a los de otras enfermedades, sin embargo, actualmente se cuenta con una serie de pruebas que facilitan el diagnóstico. En este sentido, es importante tener en cuenta la historia clínica, la exploración física y otras pruebas analíticas que pueden orientar al médico a confirmar el diagnóstico de la enfermedad. A continuación, en la tabla 4 se presentan los criterios de diagnóstico más utilizados.

Tabla 3. Criterios de diagnóstico de la artritis reumatoide.

Analítica de sangre	<ul style="list-style-type: none"> ● Hemograma ● Velocidad de sedimentación globular (>30 mm/h) ● Proteína C reactiva (>10 mg/L) 	29,41
Analítica de autoinmunidad	<ul style="list-style-type: none"> ● Factor reumatoide ● Anticuerpos antipéptido cíclico citrulinado (anti-PCC) ● Anticuerpos antinucleares ● Genotipificación del antígeno leucocitario humano de clase II 	29,41

Análisis del líquido sinovial	<ul style="list-style-type: none"> ● Análisis macroscópico: color, viscosidad y volumen ● Análisis microscópico: recuento de leucocitos totales y la búsqueda de cristales mediante luz polarizada 	37,41
Técnicas de imagen	<ul style="list-style-type: none"> ● Radiografía ● Ecografía ● Resonancia magnética 	29,41

La tabla 3 menciona las pruebas de rutina utilizadas para diagnosticar la artritis reumatoide.

4.4 Lupus eritematoso sistémico

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune de curso crónico, caracterizada por la presencia de múltiples autoanticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos. En esta enfermedad se forman varios inmunocomplejos que se depositan en múltiples órganos y tejidos que provocan respuestas inflamatorias destructivas^{42,43}

Características de la enfermedad

El cuadro clínico del LES tiende a ser variable por su diversidad de manifestaciones y su severidad. Por lo tanto, es importante iniciar un tratamiento oportuno con el fin de obtener un control sobre la enfermedad y evitar su progresión hacia la discapacidad funcional que puede traer consigo la reducción de la calidad de vida de los pacientes. El espectro clínico de la enfermedad es amplio y heterogéneo, esto implica la presencia de múltiples manifestaciones clínicas no órgano específicas que se describen en la tabla 5. Aún no existe cura para esta EA, sin embargo, la sintomatología se puede manejar con una serie de medicamentos que regulan el sistema inmune y controlan la inflamación, aunque se desconoce la causa exacta de esta reacción inflamatoria, probablemente sea el resultado de una combinación de factores genéticos, hormonales y factores ambientales como infecciones por virus, rayos ultravioleta y algunos medicamentos⁴³⁻⁴⁵.

Epidemiología:

Esta enfermedad se manifiesta en cualquier edad especialmente entre los 15 y 40 años⁴⁶, tiene una amplia distribución mundial, afecta a todas las razas, especialmente a la población femenina en proporción de 9:1. En el mundo, existe una mayor prevalencia para el lupus eritematoso sistémico en personas de ascendencia africana y asiática y en países como Italia y España, principalmente por el HLA que expresan sus habitantes (HLA-DRB1*08 y DRB1*15)⁴⁷. La prevalencia en EE. UU. es de 52/100.000 habitantes, 21/100.000 en Canadá y 25-91/100.000 en Europa. En cuanto a la epidemiología en América latina la mortalidad y el compromiso renal es mayor en pacientes de origen hispano que en pacientes caucásicos debido a que la enfermedad tiene mayor prevalencia en los estratos socioeconómicos bajos y menor nivel educativo⁴⁸. En general, los hombres con LES presentan menos fotosensibilidad, una edad de inicio más tardío y una tasa más alta de mortalidad. Los niños menores de 15 años padecen formas más graves de la enfermedad, principalmente neuropatía, afectación neurológica y trombocitopenia⁴⁹. De acuerdo con cifras del Sistema Integral de Información de la Protección Social, la prevalencia demográfica del lupus en Colombia, entre 2012 y 2016, predominó en Bogotá, con 13.747 pacientes. En el mismo periodo, en Antioquia se

registraron 9.893 pacientes y en el Valle del Cauca 6.020. De ese registro llama la atención los departamentos de Vichada, Vaupés y Guainía, con 9, 7 y 6 pacientes respectivamente; esto podría ser las difíciles condiciones de acceso al sistema de salud presentadas allí y por el desconocimiento que aún existe de la enfermedad^{50,51}.

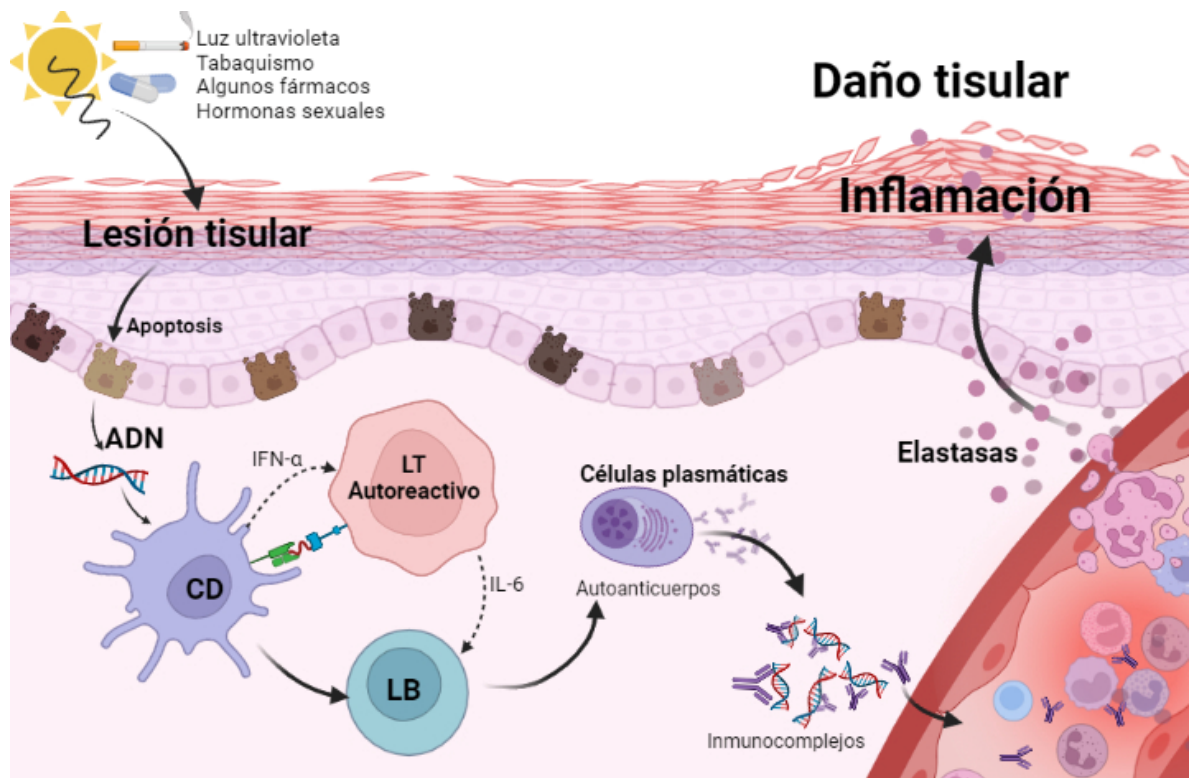
Inmunopatología:

Entre los factores predisponentes que pueden ocasionar la aparición de LES se pueden encontrar la luz ultravioleta, el tabaquismo, algunos fármacos y hormonas sexuales, estos provocan inflamación y el incremento de muerte celular por apoptosis. El LES se caracteriza por presentar una deficiencia en la eliminación por fagocitosis de restos celulares o cuerpos apoptóticos, los macrófagos en pacientes con LES son menos capaces de fagocitar debido a defectos intrínsecos en las funciones celulares como defectos de adherencia, reducción en la expresión de receptores de superficie o una falla en la expresión de señales apoptóticas^{44,45}, causando una generación constante de autoantígenos los cuales producen una respuesta inmune que conlleva a la formación de autoanticuerpos que están dirigidos a autoantígenos como el ADN, RNA, restos apoptóticos, entre otros. Estos complejos antígeno-anticuerpo entran al torrente sanguíneo y se dirigen a las membranas basales activando el complemento, lo que provoca inflamación y en consecuencia manifestaciones clínicas dependiendo del órgano al que se dirijan^{49,52}. Otros complejos inmunes se unen al receptor FcγRIIa de las células dendríticas plasmocitoides o al receptor de antígeno del linfocito B para ser internalizados y que posteriormente se unan a un TLR específico, activando una cascada de quinasas que causa la síntesis masiva de INF- α que potencia la respuesta inmunitaria y ocasiona más apoptosis en las células. Además, se producen las citoquinas IL-2, IFN γ , IL-4, IL-6, IL-10 y factor de crecimiento transformante beta (TGF-9), BAFF (BLyS) y APRIL, estas dos últimas promotoras de la supervivencia y diferenciación de linfocitos B⁵³.

Después de la síntesis de INF- α , se estimula la activación de los LT que interactúan con los LB, en donde se une el TCR con el CMH del péptido antigénico dando lugar a la unión LB

como CPA y el LT por medio de su CD40 y CD40L respectivamente para producir citoquinas y anticuerpos, con el fin de formar más complejos autoinmunes para activar linfocitos T CD8+ que continúen con el círculo de la enfermedad^{44,49,52}. Por otra parte, se ha documentado una deficiencia en el número y la funcionalidad de los linfocitos T y linfocitos B reguladores, quienes, en situación normal son los encargados de regular la inflamación y mantener la homeostasis linfocitaria. En el caso del LES se ha observado una disminución del número de T reguladores relativo al número de linfocitos activados, así como una baja funcionalidad de ellos, esto puede ser por diferentes causas; baja producción de IL-2 en los pacientes con LES, la cual resulta ser indispensable para la supervivencia y función de las células T reguladoras, también otra causa puede ser la inhibición de estas por parte del IFN- α proveniente de las células dendríticas plasmocitoides⁵⁴. En el caso de los linfocitos B reguladores, se ha demostrado que las señales inflamatorias desencadenadas en el LES disminuyen la capacidad de las células B reguladoras para secretar IL-10 e inducen la proliferación de células B productoras de autoanticuerpos^{44,55}.

Figura 2. Inmunopatología del lupus eritematoso sistémico



Fuente: Elaboración propia mediante el programa BioRender

Manifestaciones clínicas:

Tabla 4. Manifestaciones clínicas del lupus eritematoso sistémico.

Manifestación clínica	Descripción	Referencias bibliográficas
Manifestaciones generales	<ul style="list-style-type: none">● Fiebre● Cefalea● Pérdida de peso● Cansancio● Malestar inespecífico	41,42
Manifestaciones cutáneas	<ul style="list-style-type: none">● Eritema malar● Eritema en alas de mariposa● Urticaria● Lupus discoide● Lupus tumidus● Alopecia, alopecia areata● Nódulos subcutáneos	41,43
Manifestaciones cardiovasculares	<ul style="list-style-type: none">● Hipertensión● Pericarditis● Miocarditis● Endocarditis● Infarto	41,43
Manifestaciones pulmonares	<ul style="list-style-type: none">● Pleuritis● Neumonitis	41,43

	<ul style="list-style-type: none"> ● Embolia pulmonar ● Hemorragia pulmonar ● Pulmón encogido ● Neumonitis lúpica ● Síndrome de distrés respiratorio ● Hemorragia alveolar ● Hipertensión pulmonar 	
Manifestaciones renales	<ul style="list-style-type: none"> ● Insuficiencia renal ● Sangre en la orina ● Orina muy espumosa ● Glomerulonefritis ● Nefropatía lúpica ● Proteinuria 	41,43
Manifestaciones hematológicas	<ul style="list-style-type: none"> ● Anemia de trastorno crónico ● Anemia hemolítica autoinmune ● Trombocitopenia ● Leucopenia generalmente con linfopenia ● Trombosis ● Vasculitis ● Aplasia pura de la 	41,43

	serie roja	
Manifestaciones musculares y articulares	<ul style="list-style-type: none"> ● Dolor muscular ● Dolor en las articulaciones ● Artritis 	41,43
Manifestaciones gastrointestinales	<ul style="list-style-type: none"> ● Aftas ● Pancreatitis ● Hepatitis ● Isquemia intestinal ● Vasculitis intestinal ● Pseudo-obstrucción intestinal 	41,43

En la tabla 4, se nombran las manifestaciones clínicas que pueden estar presentes en un paciente con lupus eritematoso sistémico en los diferentes sistemas del cuerpo.

Diagnóstico

El diagnóstico de LES debe realizarse teniendo en cuenta parámetros como la historia clínica, exploración física, realización de estudios de autoinmunidad y otras pruebas analíticas o de imagen. Ninguna prueba, por sí misma, es diagnóstica de lupus por eso todas las pruebas diagnósticas son complementarias entre sí, por esta razón el seguimiento clínico será de gran importancia. A continuación, en la tabla 6 se encuentran las pruebas más utilizadas para su diagnóstico^{42,43}.

Tabla 5. Criterios de diagnóstico del lupus eritematoso sistémico.

Analítica de sangre	<ul style="list-style-type: none"> ● Hemograma ● Velocidad de sedimentación (> 30 mm/h) ● Creatinina en suero (< 110 μmol/L) 	41,43
Analítica de autoinmunidad	<ul style="list-style-type: none"> ● Anticuerpos antinucleares ● Anticuerpos anti-DNA ● Anticuerpos anti-Sm ● Anticuerpos antifosfolípidos ● Anticuerpos anti-Ro ● Niveles del complemento (C3, C4, CH50) ● Factor reumatoide 	41,43
Biopsia	<ul style="list-style-type: none"> ● Examen del aspecto de las lesiones ● Análisis histológicos ● Estudio de inmunofluorescencia directa 	41,43
Uroanálisis	<ul style="list-style-type: none"> ● Tira reactiva de orina 	41,43

	<ul style="list-style-type: none"> ● Examen microscópico (hematíes, leucocitos y cilindros) ● Cuantificación del cociente Proteína/Creatinina 	
Técnicas de imagen	<ul style="list-style-type: none"> ● Radiografía de tórax ● Ecocardiograma 	41,43

La tabla 5 menciona las pruebas de rutina utilizadas para diagnosticar el lupus eritematoso sistémico.

4.5 Tiroiditis de Hashimoto:

La tiroiditis de Hashimoto (TH) es una EA en la cual el sistema inmunológico desconoce y ataca la tiroides, el sistema inmune comienza a generar una serie de anticuerpos que van dirigidos hacia elementos específicos de la glándula, esto trae como resultado una insuficiente función hormonal, por esta razón, esta enfermedad se conoce como hipotiroidismo, es decir una tiroides hipoactiva que a lo largo del tiempo va a tener una progresiva decadencia⁵⁶.

Características de la enfermedad:

La tiroiditis de Hashimoto, también conocida como tiroiditis linfocítica crónica consiste en la inflamación de la glándula tiroides y constituye una afección tiroidea autoinmune de lenta evolución. La enfermedad de Hashimoto se puede dar por factores asociados a una

predisposición genética, tiende a ser más frecuente en mujeres, pero puede afectar a hombres también. Los cambios de la glándula progresan muy lentamente y sus manifestaciones aumentan con el paso del tiempo; por lo tanto, el deterioro de la función y la llegada del hipotiroidismo suele ser tardío, es por esto, que la disminución en la producción de hormonas tiroideas no podría ser descubierta en un análisis hematológico hasta que la glándula esté lo suficientemente afectada. En esta enfermedad se producen centros germinales y folículos linfoides, juntamente con una gran infiltración de linfocitos que destruyen en gran medida la tiroides. Conocer las manifestaciones clínicas y el estado funcional de la tiroides es de gran importancia para el diagnóstico y pronto inicio del tratamiento^{56,57}.

Epidemiología:

La Tiroiditis de Hashimoto puede presentarse a cualquier edad pero ocurre más frecuentemente en mujeres de edad entre los 30 y 50 años⁵⁸, la prevalencia de la enfermedad aumenta a partir de los 35 años de edad y puede afectar también a hombres especialmente a partir de los 50 años y niños alrededor del 2%. Dependiendo de la edad de los pacientes cambia la forma en que se presenta la enfermedad, los niños por ejemplo presentan con mayor frecuencia alteración analítica y clínica de las hormonas tiroideas. Se estima que alrededor de la mitad de los pacientes que tienen TH pueden presentar un estado “eutiroideo” que en cualquier momento puede evolucionar a un hipotiroidismo clínico, es decir, al desarrollo de síntomas y signos característicos de la enfermedad como cuello grueso o presencia de bocio, aumento de peso, piel seca, pérdida de cabello, menstruación irregular o abundante, cansancio y alta sensibilidad al frío^{56,59,60}, entre otras que se describen en la tabla 7.

En Colombia se puede afirmar que la prevalencia de hipotiroidismo clínico no sospechado llega hasta 18 casos por 1.000 personas, esta cifra aumenta hasta alcanzar 25 a 104 casos por 1.000 personas si se incluye los pacientes con hipotiroidismo subclínico^{57,61}. Hay una variable importante que es la ingesta o exposición a cantidades superiores de yodo esto depende del consumo de sal yodada y medicamentos o vitamínicos que contienen este elemento, los cuales alteren la síntesis, el transporte o las pruebas de función hormonal. Según ENSIN2015 (Encuesta Nacional de la Situación Nutricional 2015) Colombia presenta

una excesiva ingesta de yodo⁶². El exceso de Yodo aumenta la antigenicidad esto hace muy probable que la anti-tg y anti-TPO estén elevados y esto podría explicar la alta frecuencia de estos anticuerpos en la población colombiana⁶³.

Inmunopatología:

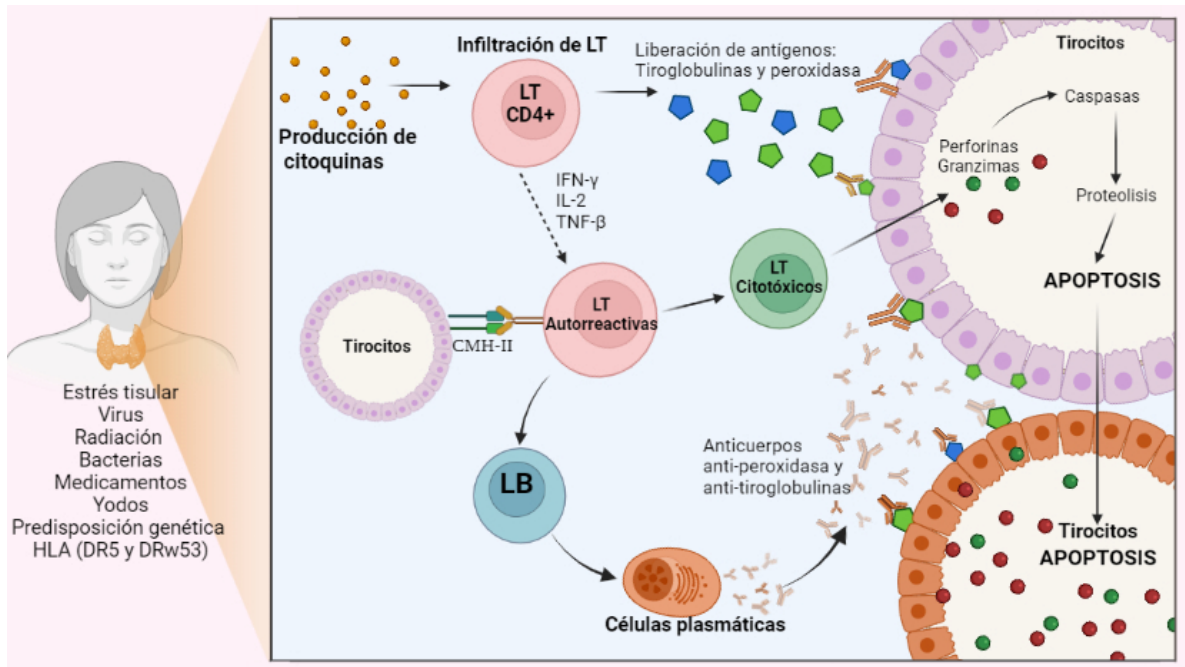
En la TH hay algunos factores predisponentes como la exposición al yodo y a las radiaciones ultravioleta, también existe una predisposición genética como el HLA (DR5 y DRw 53), y algunos estímulos no inmunológicos tales como infecciones virales. Todos estos factores conducen a la producción de antígenos HLA clase II en los tirocitos que al contener inapropiadamente moléculas clase II sobre su superficie, presentan sus propios autoantígenos a las células T ayudadoras desencadenando una respuesta inmune contra la glándula^{64,65}.

La destrucción de la tiroides se puede producir por diferentes mecanismos que se describen a continuación:

Una vez se desencadena esta respuesta, la tiroides es infiltrada por linfocitos T, linfocitos B, células plasmáticas, macrófagos y células dendríticas. Las células T CD4+ liberan IFN- γ , IL-2 y TNF- β que inducen la proliferación de células T autorreactivas ante la expresión de antígenos CMH-II en los tirocitos, tanto IFN- α como IFN- β bloquean la incorporación de yodo a las hormonas tiroideas e interfieren en la expresión del cotransportador Na-I, de tiroglobulina y tiroperoxidasa. En particular, este IFN- γ es capaz de activar a los macrófagos quienes pueden promover procesos inflamatorios que dañan de manera progresiva los tirocitos. Por otro lado, encontramos un mecanismo mediante el cual la activación de un linfocito T CD8+ puede causar citotoxicidad y daño en las células de la tiroides que expresan moléculas HLA-II, estos linfocitos pueden unirse a los receptores de muerte del tirocito activando la vía de las caspasas debido a que estas células tienen en su membrana una molécula conocida como FAS y en presencia de células T citotóxicas autorreactivas contra alguna célula tiroidea van a unirse a su receptor, ya que estas expresan a su ligando FAS-L, de esta manera se induce a la apoptosis de los tirocitos mediante la exocitosis de granulos que contienen perforinas y granzimas y causan proteólisis de la mitocondria, el ADN y la membrana celular; a este mecanismo se le conoce como como citotoxicidad mediada por

linfocitos T. Por último, también hay mecanismos que involucran a las células plasmáticas cuando estas son autorreactivas por las células de la tiroides, generando anticuerpos contra los antígenos glandulares (tiro-globulina y tiroperoxidasa) y las natural killer que tengan receptores para estos anticuerpos, los van a reconocer por su región constante induciendo la muerte celular de los tirocitos unidos a anticuerpos, a este mecanismo se le denomina citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos^{59,60,64}.

Figura 3. Inmunopatología de la tiroiditis de Hashimoto



Fuente: Elaboración propia mediante el programa BioRender

Manifestaciones clínicas:

Tabla 6. Manifestaciones clínicas de la Tiroiditis de Hashimoto.

	Manifestaciones	Referencias bibliográficas
Manifestaciones cutáneas	● Piel fría, seca,	41,49,66

	<p>amarillenta, gruesa y pálida</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Uñas quebradizas ● Mixedema 	
Manifestaciones cardiovasculares	<ul style="list-style-type: none"> ● Bradicardia ● Hipotensión ● Disminución de la función renal ● Anemia 	41
Manifestaciones gastrointestinales-hepáticas	<ul style="list-style-type: none"> ● Estreñimiento ● Colesterol total y HDL elevados 	41
Manifestaciones musculares	<ul style="list-style-type: none"> ● Hipotermia ● Hipotonía ● Aumento en la fase de contracción/descontracción ● Pseudohipertrofia muscular 	41

La tabla 6 menciona las pruebas de rutina utilizadas para diagnosticar la tiroiditis de Hashimoto.

Diagnóstico

El diagnóstico de la TH incluye la detección de anticuerpos que participan en la inmunopatología de anticuerpos que se desarrollan en el curso de la enfermedad, sin

embargo, la base del diagnóstico de esta enfermedad es la determinación de la concentración de las hormonas TSH, T4 Y T3. El diagnóstico habitual de esta patología se encuentra en la tabla 8.

Tabla 7. Criterios de diagnóstico para la Tiroiditis de Hashimoto.

Examen físico	<ul style="list-style-type: none"> ● Palpación de tiroides 	41,67,68
Anticuerpos	<ul style="list-style-type: none"> ● Antitiroglobulina ● Antiperoxidasa 	41
Técnicas de imagen	<ul style="list-style-type: none"> ● Ecografía ● TAC 	41
Concentraciones de hormonas en la sangre	<ul style="list-style-type: none"> ● TSH ● T4 ● T3 	41
Test dinámicos	<ul style="list-style-type: none"> ● Test de descarga con perclorato 	41

La tabla 7 menciona las pruebas de rutina utilizadas para diagnosticar la tiroiditis de Hashimoto.

4.6 Seguimiento por citometría de flujo y valor pronóstico

La CMF es una herramienta rápida que proporciona un análisis multiparamétrico de células individuales en solución, además permite la caracterización simultánea de poblaciones mixtas y autoanticuerpos a la vez, bajo condiciones como el tamaño, la complejidad y los marcadores moleculares que presenten⁶⁹, este hecho es importante porque pretende un diagnóstico más amplio y rápido de las EA ya que puede identificar no sólo la expresión anormal de moléculas extracelulares e intracelulares, sino que también permite una mejor comprensión de la inmunopatología de la enfermedad⁷⁰. Esta herramienta tiene la ventaja de

ser más sensible, cuantitativa, ampliamente disponible, útil, rápida y relativamente más fácil de realizar en un entorno de laboratorio de diagnóstico en comparación con otras técnicas^{69,71}. En los últimos años, la CMF se ha utilizado en el monitoreo de diferentes patologías autoinmunes como la esclerosis múltiple, el lupus eritematoso sistémico, la artritis reumatoide, la enfermedad de Graves-Basedow, síndrome linfoproliferativo autoinmune, entre otras^{1,72}. Esta herramienta permite hacer la detección de inmunoglobulinas humanas que se han podido utilizar como método de rutina de las anemias hemolíticas, la purpura trombopenica idiopática y neutropenias autoinmunes^{72,73}. Además, este método en los últimos años ha significado un gran avance pues permite la determinación de poblaciones celulares⁷⁴ como T reguladoras, linfocitos CD3+, CD4+, CD8+, CD14, CD16, CD25 y transcripción Foxp3, además de la identificación de una serie de citoquinas proinflamatorias como IL-10, IL-8, IL-1 y TNF-a que están relacionados con la aparición de enfermedades autoinmunes. Estas determinaciones son de gran importancia en el diagnóstico, pronóstico y esclarecimiento de la fisiopatología de ciertas enfermedades que pueden mostrar diferencias en estos marcadores^{1,71,72,75,76}. Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente, se hace necesario profundizar en el uso de la CMF en el diagnóstico de artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y tiroiditis de Hashimoto.

4.7 La citometría de flujo y la artritis reumatoide

Es bien sabido que la artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria del tejido sinovial en la cual se produce una infiltración de diferentes células inflamatorias que conducen a la destrucción gradual del cartílago articular y el hueso subyacente junto con varias manifestaciones extraarticulares³⁴. La desregulación en las concentraciones de las diferentes subpoblaciones celulares mencionadas en la tabla 9 que se pueden encontrar en la sangre periférica y la membrana sinovial de los pacientes con AR tienen gran importancia en la inmunopatología y la evolución de la enfermedad, así mismo, el análisis de estas células mediante CMF podría significar un método de diagnóstico y seguimiento para estos pacientes⁶⁹.

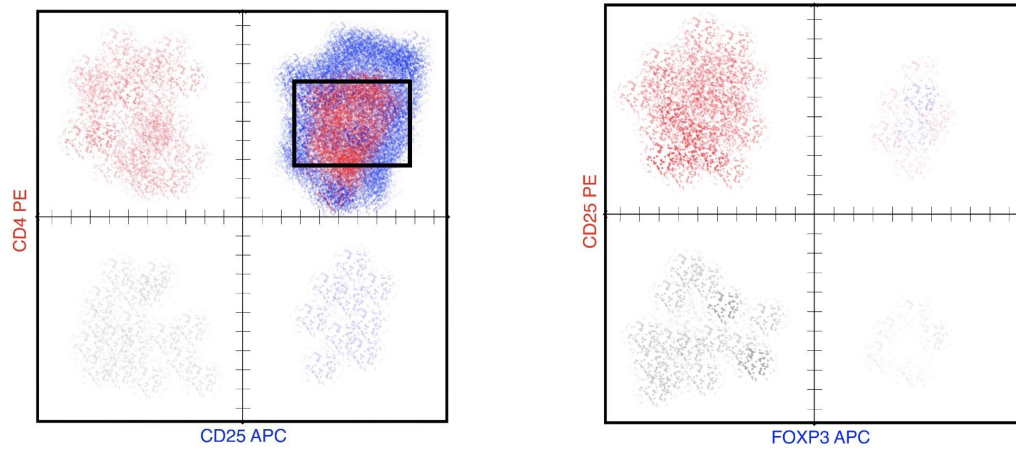
Tabla 8. Marcadores celulares de artritis reumatoide

	Estado	Ubicación	Marcadores	Referencias bibliográficas
Linfocitos T ayudadores	Aumentado	Membrana sinovial	CD3+ CD4+ CD8-	77
Citoquina	Aumentada	Líquido sinovial, membrana sinovial, plasma y suero	TNF-a	78
Linfocitos T supresores/citotóxicos	Disminuido	Membrana sinovial	CD3+ CD4- CD8+	77
Linfocitos T reguladores	Disminuido	Sangre y líquido sinovial	CD4+ CD25+ FOXP	79
Linfocitos Th17	Aumentado	Sangre periférica y tejido sinovial	IL-17 IL-22	80
Linfocitos B	Aumentado	Sangre periférica y tejido sinovial	CD20 CD79a	81
Neutrófilos	Aumentado	Líquido sinovial	CD64+	82
Monocitos	Disminuido	Sangre periférica	CD14+ CD16+	83

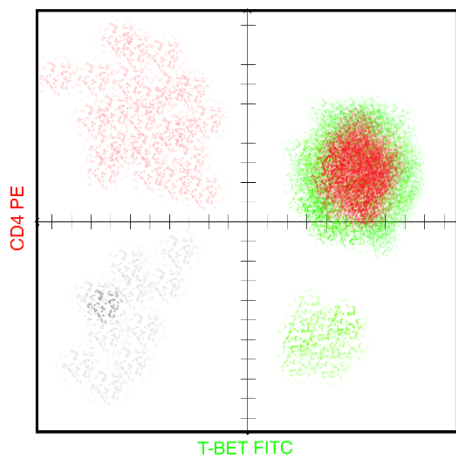
En la tabla 8 se hace una comparación de los niveles de diferentes poblaciones celulares que participan en la inmunopatología de la artritis reumatoide

Figura 4. Citometrías de flujo de artritis reumatoide

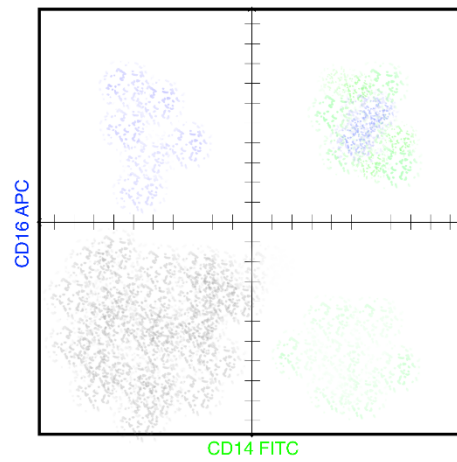
A.



B.

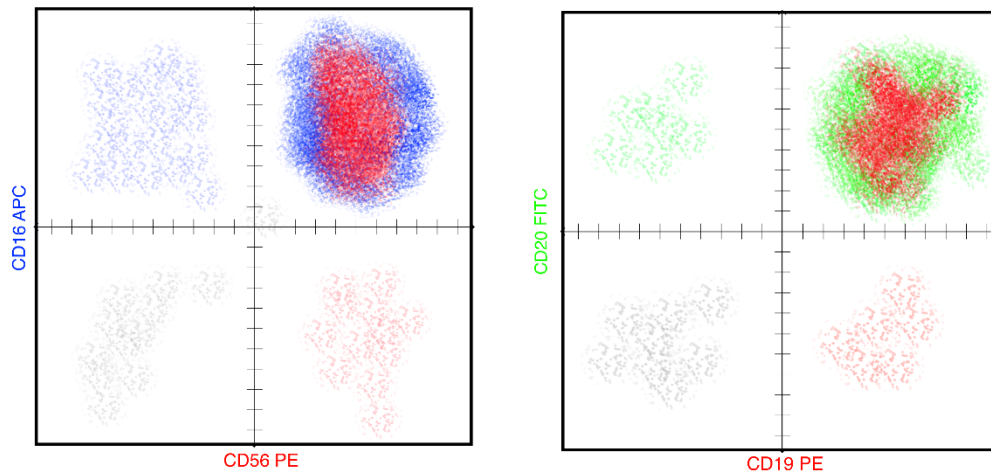


C.



D.

E.



Fuente: Elaboración propia mediante el programa Sketchbook

Análisis del comportamiento celular en la artritis reumatoide (A) Linfocitos T ayudadores activados (CD25+ CD4+) y linfocitos T reguladores (CD25+ FOXP3+). (B) Población Th1 (CD4+ TBET+). (C) Población de monocitos (CD14+ CD16+). (D) Células Natural Killers (CD16+ CD56+). (E) Linfocitos B (CD19+ CD20+).

4.8 La citometría de flujo y el lupus eritematoso sistémico

En el LES hay una hiperactividad de los linfocitos B que da origen a una gran producción de autoanticuerpos, por esta razón, resultan ser de gran importancia para el diagnóstico y seguimiento de esta enfermedad. El LES por ser una enfermedad no inmunespecífica, puede producir autoanticuerpos contra cualquier elemento celular. La mayoría de estos anticuerpos van dirigidos contra el ADN de cadena doble y cadena sencilla, ribonucleoproteínas citoplasmáticas y nucleares y el DNP e histonas. Posiblemente estos sean la causa de algunas manifestaciones clínicas características de la enfermedad, se ha evidenciado que según el anticuerpo se puede identificar el daño en los diferentes sistemas⁸⁴.

Aparte de la detección de autoanticuerpos, se pueden encontrar otros marcadores que indican el estado del paciente como se evidencia en la tabla 10; se pueden evaluar por CMF

poblaciones celulares como NK que se encuentran disminuidas y con fallas en su función, por otro lado, se pueden encontrar monocitos y linfocitos B con niveles superiores a los normales⁸⁴.

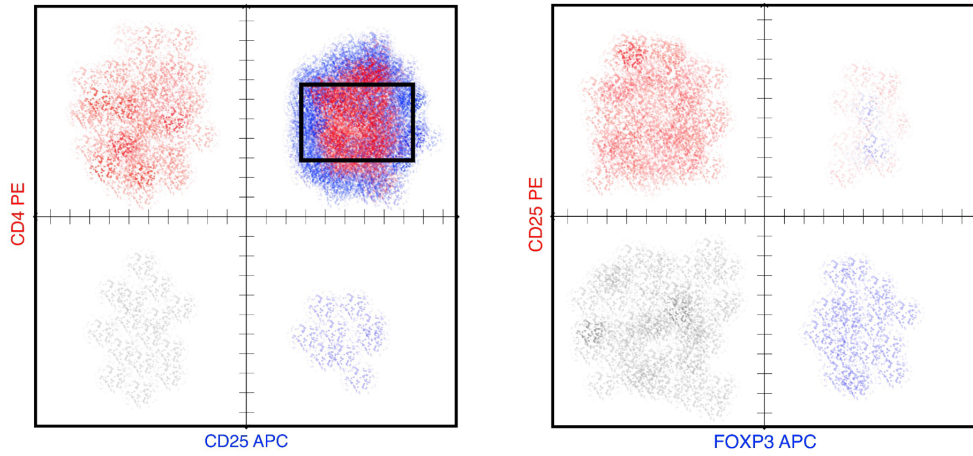
Tabla 9. Marcadores celulares de lupus eritematoso sistémico

	Estado	Ubicación	Marcadores	Referencias bibliográficas
Monocitos	Aumentado	Sangre periférica	CD14+ CD16+	85
Autoanticuerpos	Presencia	Sangre periférica	Detección de autoanticuerpos: Anticuerpos antinucleares <hr/> Anticuerpos anti-DNA <hr/> Anticuerpos anti-Sm <hr/> Anticuerpos antifosfolípidos <hr/> Anticuerpos anti-Ro <hr/> Anticuerpos U1RNP	86,87
Células B (Breg) extrafoliculares active Naive (aNAV) y DN2	Aumentado	Sangre periférica	CD19, CD27, CD38, CD24, IgD, CD11c, CD21 y 9G4	88,89
Células NK	Disminuido	Sangre periférica	CD16 + o CD56 +	44

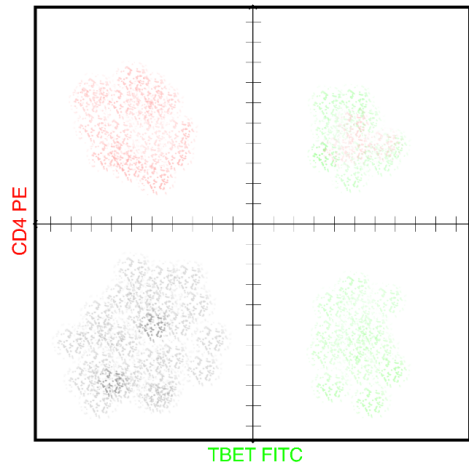
En la tabla 9 se hace una comparación de los niveles de diferentes poblaciones celulares que participan en la inmunopatología del lupus eritematoso sistémico.

Figura 6. Citometrías de flujo de lupus eritematoso sistémico

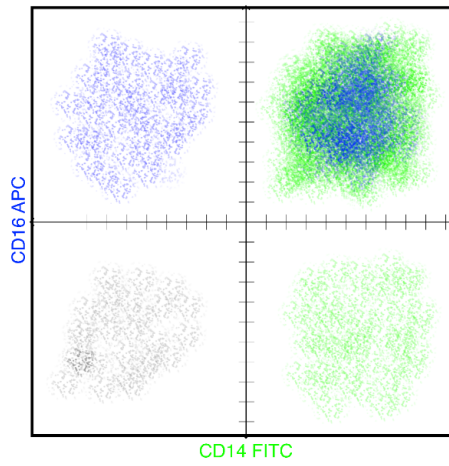
A.



B.

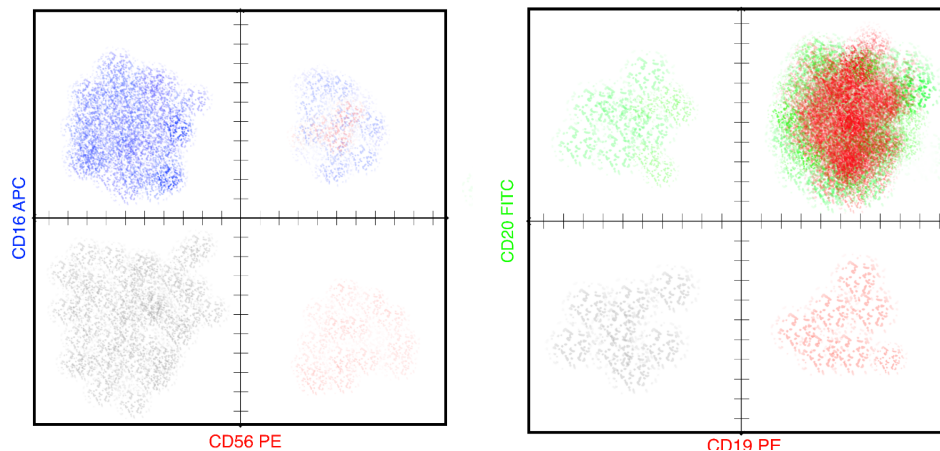


C.



D.

E.



Fuente: Elaboración propia mediante el programa Sketchbook

Análisis del comportamiento celular en el lupus eritematoso sistémico (A) linfocitos T ayudadores activados (CD25+ CD4+) y linfocitos T reguladores (CD25+ FOXP3+). (B) Población Th1 (CD4+ TBET+). (C) Población de monocitos (CD14+ CD16+). (D) Células Natural Killers (CD16+ CD56+). (E) Linfocitos B (CD19+ CD20+) en el LES.

4.9 La citometría de flujo y la tiroiditis autoinmune:

La evolución de la tiroiditis autoinmune también llamada tiroiditis de Hashimoto es un proceso difuso que consiste en una combinación de la destrucción de las células epiteliales, la infiltración de linfocitos T, linfocitos B, células plasmáticas, macrófagos y células dendríticas en la tiroides y finalmente una fibrosis del tejido tiroideo. La detección de anticuerpos antitiroideos ha sido un punto clave en el diagnóstico de esta enfermedad, ya que se ha encontrado que el suero de los pacientes con TH presenta niveles altos de anti-tiroglobulina y anti-tiroperoxidasa, contribuyendo a la actividad citotóxica de la enfermedad^{57,90}. El uso de la CMF en el diagnóstico de la tiroiditis de Hashimoto es limitado, sin embargo, a nivel serológico y del tejido tiroideo se han evidenciado diferencias en algunas líneas celulares, por lo tanto, su análisis podría representar una alternativa de seguimiento y

control de la evolución de la enfermedad en los pacientes. La TH comienza con la presentación de autoantígenos tiroideos por lo cual se puede observar un aumento de la función de las CPA, existe una disminución de células T CD4+ en donde la mayoría de estas resultan ser T reguladoras que actúan provocando la proliferación y transformación de las células B en plasmocitos productores de anticuerpos tiroideos⁹¹⁻⁹³. Como es común en las enfermedades autoinmunes se ha reconocido que las células Th17 contribuyen a la patogénesis de la TH. En diferentes estudios se ha encontrado que hay un aumento de linfocitos Th17 y que estas células se infiltran dentro de la tiroides aumentando los niveles de IL-17 en los pacientes y contribuyendo a la fibrosis tiroidea^{64,94}. Por otro lado, también se ha estudiado el papel de las NK en la patogenia de la TH, ya que se ha sugerido que estas células desempeñan un papel inmunoregulator en la prevención de enfermedades autoinmunes, en los pacientes con TH se ha encontrado un deterioro de la función de las NK que podría inducir a la expansión de los subconjuntos de células B y T; y una mejora de la actividad de las respuestas mediadas por células autoinmunes Th1, por lo tanto esta función alterada podría tener implicaciones importantes en la aparición y evolución de la autoinmunidad tiroidea, sin embargo, el defecto en las NK de estos pacientes es más de tipo funcional y no una disminución del número de células, por lo cual habría que evaluar la efectividad de su uso en el monitoreo de la enfermedad mediante CMF⁹⁵. Finalmente, es evidente que el rasgo histopatológico más característico de la TH es la inflamación, por lo que en los últimos años se ha evaluado la posibilidad de incluir el índice neutrófilo/linfocito en el seguimiento de estos pacientes ya que este es un marcador importante de inflamación que se ha utilizado en el diagnóstico de diferentes enfermedades inflamatorias. Varios estudios han demostrado que hay un aumento significativo de la proporción de neutrófilos en los pacientes con TH, especialmente en los casos más complicados, debido al daño citotóxico causado por los autoanticuerpos en la glándula tiroides⁹¹.

Tabla 10. Marcadores celulares de tiroiditis de Hashimoto

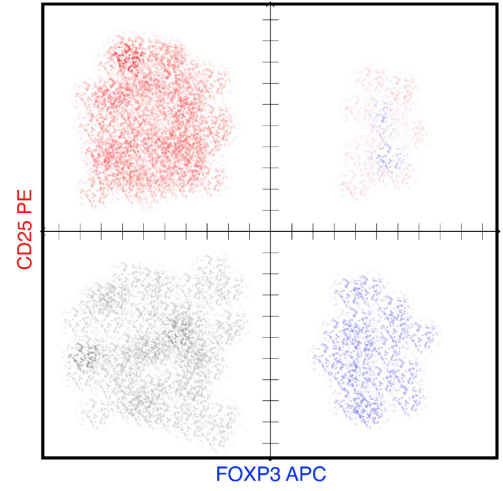
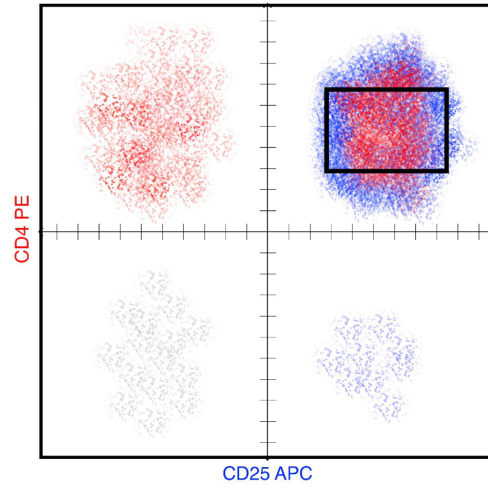
	Estado	Ubicación	Marcadores	Referencias bibliográficas
--	---------------	------------------	-------------------	-----------------------------------

Linfocitos T ayudadores	Disminuido	Glándula tiroides y sangre periférica	CD3+ CD4+ CD8-	91-93
Linfocitos T citotóxicos/supresores	Aumentado	Glándula tiroides y sangre periférica	CD3+ CD4- CD8+	91,93
Linfocitos T reguladores	Disminuido	Sangre periférica	CD4+ CD25+ FoxP3	93,96,97
Linfocitos Th17	Aumentado	Glándula tiroides y suero	IL-17 IL-22	94
Linfocitos B	Aumentado	Plasma	CD20	92,93
Neutrófilos	Aumentado	Sangre periférica	CD64+	91
Células presentadoras de antígeno	Aumentado	Tirocitos	CD1a+	92

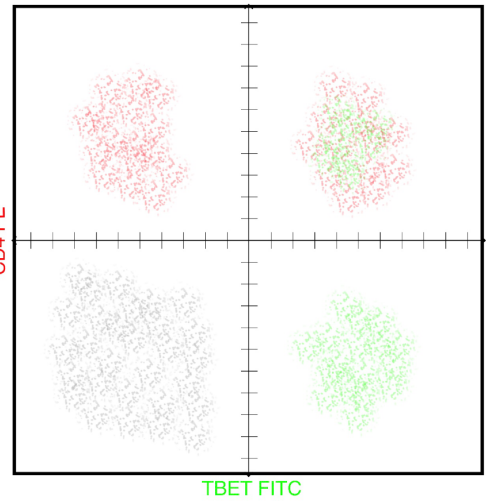
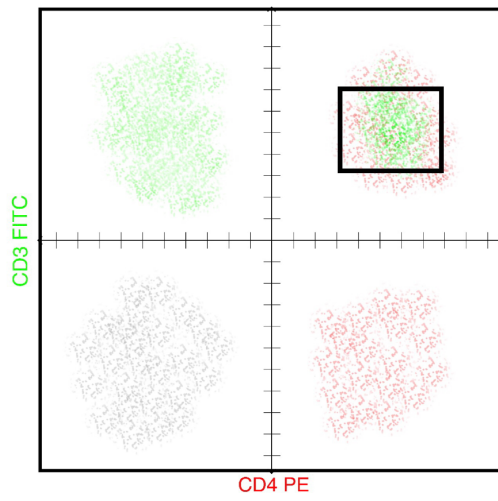
En la tabla 10 se hace una comparación de de los niveles de diferentes poblaciones celulares que participan en la inmunopatología de la tiroiditis autoinmune

Figura 6. Citometrias flujo de tiroiditis de Hashimoto

A.

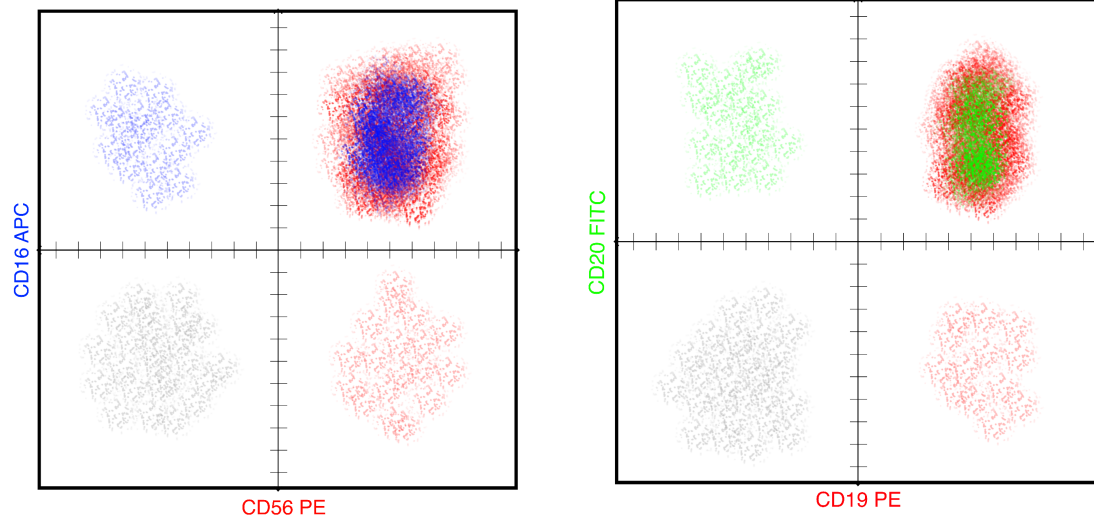


B.

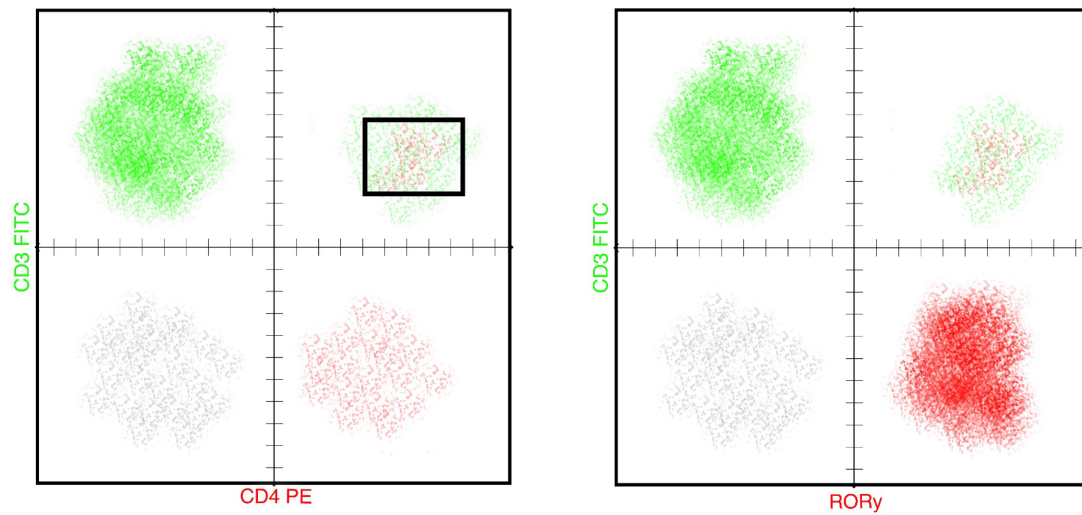


C.

D.



E.



Fuente: Elaboración propia mediante el programa Sketchbook

Análisis del comportamiento celular en la tiroiditis de Hashimoto (A) linfocitos T ayudadores activados (CD4+ CD25+) y linfocitos T reguladores (CD25+ FOXP3+). (B) Población Th1 (CD4+ TBET+). (C) Natural Killers (CD16+ CD56+). (D) linfocitos B (CD19+ CD20+) (E) Linfocitos TH17 (CD3+ RORY+)

Tabla 11. Cuadro comparativo de poblaciones celular Natural Killer, Linfocitos Th1 y Linfocito T reguladores en Artritis reumatoide, Lupus eritematoso sistémico y Tiroiditis de Hashimoto.

	Artritis reumatoide	Lupus eritematoso sistémico	Tiroiditis de Hashimoto
Natural Killer	Aumentado	Disminuido	Aumentada
Linfocito Th1	Aumentado	Disminuido	Disminuido
Linfocitos T reguladores	Disminuido	Disminuido	Disminuido
Referencias	77,79,98	44,54,85	91,93,96,97,99

Diferencia en el comportamiento de las líneas celulares NK, linfocitos Th1, linfocitos T reguladores en artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y tiroiditis de Hashimoto.

5. Metodología propuesta

5.1 Población y muestra

El objeto de análisis es bibliografía relacionada con la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y la tiroiditis de Hashimoto, así como también el comportamiento celular en estas enfermedades y la citometría de flujo como apoyo en su diagnóstico.

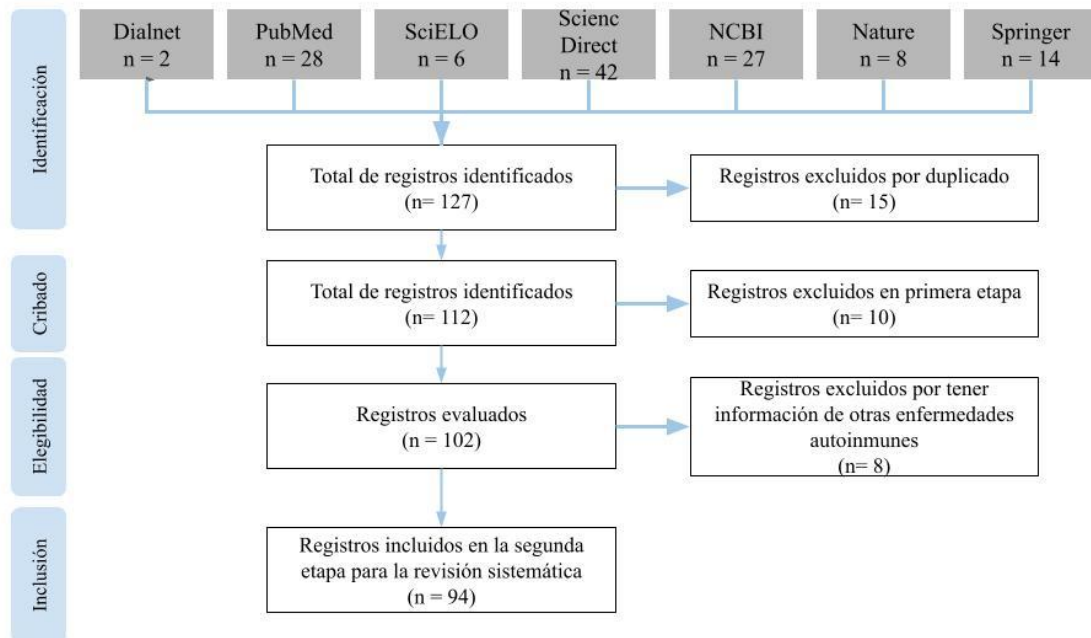
La muestra corresponde a artículos de investigación, páginas web y revisiones que incluyen estudios del comportamiento de diferentes poblaciones celulares en las enfermedades anteriormente mencionadas

5.2 Pregunta problema

La presente investigación pretende dar respuesta a la pregunta: ¿De qué manera la citometría de flujo puede aportar al diagnóstico de la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y la tiroiditis de Hashimoto?

5.3 Procedimiento

Figura 7. Diagrama de flujo PRISMA que describe las etapas de revisión de la bibliografía utilizada en la monografía.



Para realizar la presente investigación que tiene como objetivo analizar de qué manera la CMF puede aportar al diagnóstico de las enfermedades autoinmunes, se realizó una búsqueda exhaustiva de artículos científicos de revistas Q1 y Q2 en los cuales se encontraba información relevante de los conceptos de autoinmunidad, autotolerancia inmunológica, enfermedad autoinmune, CMF y marcadores celulares, a partir de esta revisión se logró sintetizar la información de manera concisa para una mayor claridad del tema. Con esta síntesis fue posible identificar el estado de las diferentes subpoblaciones celulares involucradas en cada enfermedad autoinmune que se tuvo en cuenta para el presente trabajo, y de esta manera se lograron establecer marcadores específicos para cada enfermedad que pueden indicar el estado del paciente, destacando así el aporte de la CMF en el diagnóstico y seguimiento de dichas enfermedades.

6. Resultados esperados

Este trabajo busca ampliar la barrera de conocimiento con respecto al aporte de la CMF en el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades autoinmunes. Cada enfermedad puede evidenciar cambios en los comportamientos de algunas poblaciones celulares específicas que se pueden identificar por Citometría de flujo, hacer seguimiento en las células implicadas en la inmunopatología de las enfermedades autoinmunes es de gran importancia para apoyar el diagnóstico de estas patologías^{100,101}. Aunque no hay mucha información describiendo esta técnica en estas enfermedades, con esta revisión bibliográfica se pretende despertar el interés hacia la investigación y profundización de la citometría de flujo para ampliar la barrera de conocimiento que se tiene sobre este tema hasta el momento.

7. Cronograma de actividades

Figura 8. Cronograma de actividades año 2020

Actividades/ Semana	abr-20				may-20				jun-20	jul-20			ago-20				sep-20				oct-20				nov-20				
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	
Definición de grupos de trabajo	■	■																											
Lluvia de ideas para definir tema de investigación		■	■	■																									
Búsqueda de asesores de monografía					■	■																							
Reunión con asesores de monografía para organizar el trabajo a realizar							■	■																					
Planteamiento del problema, elaboración de la justificación y el impacto esperado y definición de los objetivos									■	■	■																		
Revisión bibliográfica del concepto de autoinmunidad											■	■																	
Reunión con asesores de monografía para discutir concepto de												■																	

Figura 9. Cronograma de actividades año 2021

Actividades/ Semana	feb-21				mar-21			abr-21			may-21	jul-21		ago-21				sep-21		oct-21		nov-21			
	1	2	3	4	1	2	3	2	3	4	1	3	4	1	2	3	4	1	2	1	2	3	4		
Revisión y ajuste del marco teórico	■	■	■																						
Revisión bibliográfica de subpoblaciones involucradas en la inmunopatología de cada enfermedad				■	■																				
Elaboración de cuadros comparativos del estado de cada línea celular en las diferentes enfermedades y en pacientes sanos					■	■																			
Reunión con asesores para aclarar dudas y definir correcciones del marco teórico								■																	
Corrección del documento en general (Desde el planteamiento del problema hasta el marco teórico)									■	■	■	■	■	■	■	■	■								
Reunión con asesoras para profundizar en citometría de																		■							

Última reunión para revisión final														
Envío documento final a asesora interna y externa														

8. Discusión

Actualmente, los laboratorios de identificación de EA son muy dinámicos debido a la creciente y constante disponibilidad de nuevas pruebas con mayor alcance como la CMF¹⁰² la cual ha tenido un importante desarrollo debido a su carácter multidisciplinario que ha estado en un mejoramiento continuo en los últimos años en diferentes campos. Además, esta herramienta ha ampliado su funcionamiento en la investigación y diagnóstico clínico por esta razón se ha venido implementando en muchos laboratorios para el apoyo diagnóstico de diferentes enfermedades por esto se hace importante añadir esta técnica a los métodos utilizados para la identificación de EA¹. En Colombia hay un porcentaje importante de personas que padecen enfermedades autoinmunes por lo que se puede considerar un problema de salud pública, por esto se hace indispensable continuar en la labor de seguir indagando y buscando métodos más precisos, fáciles y completos para un diagnóstico integral. La CMF proporciona información de manera sensible y rápida sobre diferentes características químicas y físicas de células en suspensión, permitiendo así el análisis de tipo cuantitativo, cualitativo e individual de estas⁶. En la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico y la tiroiditis autoinmune hay un amplio espectro de marcadores celulares que permiten conocer el estado del paciente¹⁰³. Por esto, es importante profundizar en la investigación de estas enfermedades para buscar un mejoramiento continuo en cuanto a diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la enfermedad. La CMF le lleva ventaja a las técnicas convencionales en cuanto a su valor diagnóstico por su alta especificidad y sensibilidad, además de que permite el análisis en simultáneo de varios marcadores de múltiples líneas celulares en diferentes muestras⁵. El análisis de un panel de marcadores celulares específicos que se complementan entre sí como el CD3+ CD4+, CD3+ CD8-, CD4+ CD25+, CD3- CD19+, CD16+ CD56+, CD16+ CD14+ en sangre periférica o en líquido sinovial poseen en los pacientes de enfermedades autoinmunes un gran valor diagnóstico y pronóstico¹⁰⁴. Es importante que se indague más en esta área para poder tener un mayor control sobre estas enfermedades y contribuir al manejo de esta problemática, por esta razón posterior a este trabajo de investigación, se pretende estandarizar los niveles de marcadores específicos para identificar el estadio de la enfermedad en el que se encuentra el paciente y

así aportar a investigaciones futuras y mejorar el manejo que se le está dando a las enfermedades autoinmunes en el país.

9. Referencias bibliográficas

1. Orfao A, Ciudad J, López A, López-Berges M, Vidriales B, Macedo A, et al. La citometría de flujo en el diagnóstico clínico. *Rev cuba hematol inmunol hemoter.* 2004;
2. Barnard RM. Flow cytometry: A flexible tool for biomarker research. Vol. 4, *Bioanalysis.* 2012.
3. Sandoval N. Universidad del Rosario, pionera en investigación de enfermedades autoinmunes - Universidad del Rosario. [cited 2022 May 24]; Available from: <https://www.urosario.edu.co/Investigacion-off/Divulgacion-cientifica/Salud-y-Bienestar/Universidad-del-Rosario-a-pioneer-in-researching/>
4. Palmezano Díaz JM, Figueroa Pineda CL, Rodríguez Amaya RM, Plazas Rey LK. Prevalencia y caracterización de las enfermedades autoinmunitarias en pacientes mayores de 13 años en un hospital de Colombia. <http://www.scielo.org.mx/pdf/mim/v34n4/0186-4866-mim-34-04-522.pdf>. 2018;
5. Juan Otero Europa Azucena González-Navarro M, Biología L. APLICACIONES CLÍNICAS DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO. INTRODUCCIÓN a) ¿Qué es la Citometría de flujo? *SEQC.* 2015;
6. Campoverde Cárdenas AD, López Laaz SA, Correa Quinto WP, Cárdenas Rodríguez JD. Citometría de flujo en el diagnóstico de inmunopatía. *RECIAMUC.* 2019;3(1).
7. Abbas AK, Lichtman AH, MBBS SP. *Inmunología básica : funciones y trastornos del sistema inmunitario.* Sexta. 2020.
8. Kokuina E. De la autoinmunidad a las enfermedades autoinmunes. Vol. 40, *Revista Cubana de Medicina.* 2001.
9. Iglesias-Gamarra A, Siachoque H, Pons-Estel B, Restrepo JF, Quintana L G, Gómez Gutiérrez A. Historia de la autoinmunidad. Primera Parte La inmunología ¿desde dónde y hacia dónde? *Revista Colombiana de Reumatología.* 2009;16(1).
10. Siachoque Heber, Valero O, Iglesias A. Tolerancia inmunológica, un recorrido en el tiempo: ¿cómo discriminar entre lo propio y lo extraño? *Revista Colombiana de Reumatología.* 2013;20(4).
11. Lleo A, Invernizzi P, Gao B, Podda M, Gershwin ME. Definition of human autoimmunity - autoantibodies versus autoimmune disease. Vol. 9, *Autoimmunity Reviews.* 2010.
12. Rose NR. Prediction and prevention of autoimmune disease in the 21st Century: A review and preview. Vol. 183, *American Journal of Epidemiology.* 2016.
13. Torres S, Odio ST, Córdova ZM, Martínez C. Factores genéticos, inmunológicos y ambientales asociados a la autoinmunidad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas.* 2011;30(4).
14. Mackay Ian R. IMMUNE TOLERANCE AND THE IMMUNE RESPONSE. 2001 [cited 2022 Feb 6]; Available from: www.ewjm.com
15. Owen J, Punt J, Stranford S. Kuby. *Inmunología.* Vol. 53, *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2013.
16. Jadue Nicole, González I. Inmunopatogenia de las enfermedades autoinmunes. *Revista Médica Clínica Las Condes.* 2012;23(4).
17. Merino Pérez J, López Hoyos M. De los mecanismos de tolerancia a la autoinmunidad. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado.* 2000;8(26).

18. Nurieva RI, Liu X, Dong C. Molecular mechanisms of T-cell tolerance. Vol. 241, Immunological Reviews. 2011.
19. Brandan Dra Ma Fernanda Aguirre Ojea Alberto Luponio Aquino Esperanza José A DN. Linfocitos B. Cátedra de Bioquímica.
20. Sánchez Dorado G. Tolerancia inmunológica. Mecanismo de las enfermedades autoinmunes. Inmunodeficiencias primarias y adquiridas. 2008.
21. Xing Y, Hogquist KA. T-Cell tolerance: Central and peripheral. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 2012;4(6).
22. Marrack P, Kappler J, Kotzin BL. Autoimmune disease: Why and where it occurs. Vol. 7, Nature Medicine. 2001.
23. Wahren-Herlenius M, Dörner T. Immunopathogenic mechanisms of systemic autoimmune disease. Vol. 382, The Lancet. 2013.
24. Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: A comprehensive update. Vol. 278, Journal of Internal Medicine. 2015.
25. & Wolfman LSBA. Cuadernos De Autoinmunidad. Journal of Chemical Information and Modeling. 2013;53(9).
26. Koziel J, Mydel P, Potempa J. The link between periodontal disease and rheumatoid arthritis: An updated review topical collection on rheumatoid arthritis. Current Rheumatology Reports. 2014;16(3).
27. Díaz B, Vargas A, Vargas S, Berrocal Kasay AE. Características del cuadro clínico de la artritis reumatoide de acuerdo a la edad de inicio de la enfermedad: reporte preliminar. Rev Soc Peru Med Interna. 2006;
28. Gamero García D. Artritis reumatoide, epidemiología, fisiopatología, criterios diagnósticos y tratamiento . Revista de Medicina e Investigación UAEMéx. 2018;6(2).
29. Combe B, Lukas C, Morel J. Artritis reumatoide del adulto: epidemiología, clínica y diagnóstico. EMC - Aparato Locomotor. 2015;48(4).
30. Ramos-García V, Blanco-Carrión A. Relación entre enfermedad periodontal y artritis Reumatoide. Av periodoncia implantol oral. 2016;28(1).
31. Wilson C, Thakore A, Isenberg D, Ebringer A. Correlation between anti-Proteus antibodies and isolation rates of P. mirabilis in rheumatoid arthritis. Rheumatology International. 1997;16(5).
32. Olivares Martínez E, Hernández Ramírez DF, Núñez-Álvarez CA, Cabiedes J. Proteínas citrulinadas en artritis reumatoide. Reumatología Clínica. 2011;7(1).
33. Artritis reumatoide - Trastornos de los huesos, articulaciones y músculos - Manual MSD versión para público general [Internet]. [cited 2022 Mar 28]. Available from: <https://www.msmanuals.com/es-co/hogar/trastornos-de-los-huesos,-articulaciones-y-m%C3%BAsculos/enfermedades-articulares/artritis-reumatoide>
34. Oliva-Gutiérrez E, Martínez-Godoy MP, Zapata-Zúñiga M, Sánchez-Rodríguez SH. Artritis Reumatoide: Prevalencia, inmunopatogenia y antígenos relevantes para su diagnóstico. Archivos de Medicina. 2012;8(1).
35. Fernández-Ávila DG, Rincón-Riaño DN, Bernal-Macías S, Gutiérrez Dávila JM, Rosselli D. Prevalencia de la artritis reumatoide en Colombia según información del Sistema Integral de Información de la Protección Social. Revista Colombiana de Reumatología. 2019;26(2).

36. Feced Olmos CM, Fernández Matilla M, Robustillo Villarino M, de la Morena Barrio I, Alegre Sancho JJ. Afectación articular secundaria a infección por virus de Epstein-Barr. *Reumatología Clínica*. 2016;12(2).
37. Martínez-Castillo A, Núñez C, Cabiedes J. Análisis de líquido sinovial. *Reumatología Clínica*. 2010;6(6).
38. López Longo FJ, González Fernández CM, Monteagudo Sáez I, Carreño Pérez L. Autoanticuerpos en la artritis reumatoide | *Revista Española de Reumatología*. *Revista Española de Reumatología*. 2002;
39. Belmonte MA, Castellano JA, Román JA, Rosas J. Enfermedades reumáticas: Actualización SVR. *Sociedad Valenciana de Reumatología*. 2013;(1).
40. Sánchez-Ramón S, López-Longo FJ, Carreño L. Interleucinas en la fisiopatología de la artritis reumatoide: más allá de las citocinas proinflamatorias. *Reumatología Clínica*. 2010;6(SUPPL. 3).
41. Alarcón I, Almeida D, Alsina M, Alvarez R, Amengual MJ, Aparicio B, et al. Protocolos de diagnóstico inmunológico en enfermedades autoinmunes. *Sociedad Española de Inmunología*. 2014.
42. Martínez-Godoy MP, Oliva-Gutiérrez E, Zapata-Zúñiga M, Sánchez-Rodríguez SH. Lupus Eritematoso Generalizado: Características Generales, Inmunopatogenia y Antígenos de Relevancia. *Archivos de Medicina*. 2012;8(1).
43. Jiménez-Alonso J, Hidalgo-Tenorio C, Sabio Sánchez JM, Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Robles Marhuenda Á, et al. LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO GUÍAS CLÍNICAS DE ENFERMEDADES AUTOINMUNE [Internet]. 2011 [cited 2022 Feb 7]. Available from: https://www.chospab.es/biblioteca/libros/GUIA_LUPUS_ERITOMASO.pdf
44. Saucedo-Ulloa M. Lupus eritematoso sistémico: implicaciones de la inmunidad innata. *El Residente*. 2015;
45. Enríquez-Mejía MG, de Revisión A. Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico. *Revista de Medicina e Investigación*. 2013;1(1).
46. Valencia P, Mora C, Rossinni Y, Arbeláez AM, Plazas M, Londoño J. Análisis de grupos focales en pacientes colombianos con lupus eritematoso sistémico: una mirada cualitativa a las representaciones de la enfermedad. *Revista Colombiana de Reumatología*. 2017;24(1).
47. de Holanda MI, Klumb E, Imada A, Lima LA, Alcântara I, Gregório F, et al. The prevalence of HLA alleles in a lupus nephritis population. *Transplant Immunology*. 2018;47.
48. Avilés Izquierdo JA, Cano Martínez N, Lázaro Ochaita P. Características epidemiológicas de los pacientes con lupus eritematoso cutáneo. *Actas Dermo-Sifiliograficas*. 2014;105(1).
49. Serpa Calderón JM, Moncayo Rivera CM, Moncayo Rivera DM, Idrovo Idrovo CA. Lupus eritematoso sistémico, manifestaciones clínicas, diagnóstico y tratamiento. *Anatomía Digital*. 2021;4(1).
50. Restrepo Uribe LM. Lupus: diagnóstico e investigación son claves [Internet]. 2019 [cited 2022 Feb 7]. Available from: https://www.udea.edu.co/wps/portal/udea/web/inicio/udea-noticias/udea-noticia!/ut/p/z1/jZFNT8MwDIb_Cpcdp7jpx7ZjVKrRUXWt2KDkqgy1jKA27tZ0Qvx6MkBCMNHh8i2nvd14jDJCiY1HtQWjSKNta0fZfA0nYXcER4kEHgBiCDz_Amfu6t7YA9_gFvHB5FHWbpahtn1gjN5iR7-CQGx6QcAOWy_ODfAbkC97nZSMLkhhbao3w4qW9gbrvqxwBNj9rl6oqb7y43mlyaiNw

- m4En2qtSjpSP-
2DKi1bKtxq6myTxqZq2j1qGtd923f2hXLojtMb_g2kuR85PIRkGbsR5LPUz9x5zL2Je-Jw-
kvn9tQ263XxnjzfxUp8AKIez-w!/dz/d5/L2dBISEvZ0FBIS9nQSEh/
51. Olier-Castillo D. El Lupus Eritematoso Sistémico: una mirada especial en Colombia. *Ciencia y Salud Virtual*. 2012;4(1).
 52. Anchundia Reyes L, Barcia Guerrero G. Algunas apreciaciones sobre las enfermedades autoinmunes. *Dominio de las Ciencias*. 2016;2(3).
 53. Mercado U. Estimulador de linfocitos B en lupus eritematoso sistémico. Vol. 50, *Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2012.
 54. Layseca-Espinosa E, Monsiváis-Urenda A, Doníz-Padilla L, Portillo-Salazar H, Hernández-Castro B, Vitales-Noyola M, et al. Células T reguladoras en lupus eritematoso generalizado. *Gaceta de México*. 2018;155(1).
 55. Ohl K, Tenbrock K. Regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *European Journal of Immunology*. 2015;45(2).
 56. Kyritsi EM, Kanaka-Gantenbein C. Autoimmune Thyroid Disease in Specific Genetic Syndromes in Childhood and Adolescence. Vol. 11, *Frontiers in Endocrinology*. 2020.
 57. Sociedad Española de Inmunología. *Inmunología*. 2018 [cited 2022 Feb 4];37. Available from: <https://atlasautoinmunidad.org/wp-content/uploads/2018/07/Revista-Immunolog%C3%ADa-2018-Ene-Mar.pdf>
 58. Mincer DL, Jialal I. Hashimoto Thyroiditis. In: *StatPearls*. 2021;
 59. Ragusa F, Fallahi P, Elia G, Gonnella D, Paparo SR, Giusti C, et al. Hashimotos' thyroiditis: Epidemiology, pathogenesis, clinic and therapy. Vol. 33, *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2019.
 60. Vanderpump MPJ. The epidemiology of thyroid disease. *British Medical Bulletin*. 2011;99(1).
 61. Asociación Colombiana de Endocrinología. Consenso colombiano para el diagnóstico y manejo de las enfermedades tiroideas. *Acta Med Colomb*. 1999;24.
 62. Escobar ID. Estado actual del yodo en Colombia y comentarios sobre qué se está haciendo para mejorar la situación del exceso de yodo en el país. *Revista Colombiana de Endocrinología, Diabetes & Metabolismo*. 2020;7(2).
 63. Vargas-Uricoechea H. Epidemiología del hipotiroidismo en Colombia ¿en qué estamos y qué sabemos al respecto? *Revista Colombiana de Endocrinología, Diabetes & Metabolismo*. 2021;7(4).
 64. Rodríguez Rial JM. Daño y respuesta inmune en las tiroiditis. Patogénesis de la enfermedad tiroidea autoinmune Damage and immune response in thyroiditis. *Pathogenesis of autoimmune thyroid disease. Rev Esp Endocrinol Pediatr*. 2014;(5).
 65. Escobar ID, Kattah W, Niño A, Acosta E, Saavedra C, Ucrós A. Tiroiditis de Hashimoto Estudio de 100 casos . *Acta médica Colombiana*. 1991;
 66. Díez JJ. Hipotiroidismo subclínico. *Endocrinología y Nutrición*. 2005;52(5).
 67. Pineda J, Galofré JC, Toni M, Anda E. Hipotiroidismo. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2016 Jun 1;12(13):722–30.
 68. Claudio Liberman G. Enfermedad tiroidea subclínica: revisión y enfoque clínico. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2013;24(5).
 69. Barrera Ramírez LM, Drago Serrano ME, Pérez Ramos J, Zamora AC, Gómez Arroyo F, del Rosario Sainz Espuñes T, et al. Citometría de flujo: Vínculo entre la investigación

- básica y la aplicación clínica. Vol. 17, Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. 2004.
70. Gibson DS, Banha J, Penque D, Costa L, Conrads TP, Cahill DJ, et al. Diagnostic and prognostic biomarker discovery strategies for autoimmune disorders. Vol. 73, Journal of Proteomics. 2010.
 71. Cabral-Marques O, Schimke LF, de Oliveira EB, el Khawanky N, Ramos RN, Al-Ramadi BK, et al. Flow Cytometry Contributions for the Diagnosis and Immunopathological Characterization of Primary Immunodeficiency Diseases With Immune Dysregulation. Vol. 10, Frontiers in Immunology. 2019.
 72. Casado Hernández I, Marsán Suárez V, Díaz Domínguez G, Macías Abraham C. Utilidad diagnóstica de la evaluación de linfocitos T CD4⁻CD8⁻ TCRαβ⁺ en el Síndrome Linfoproliferativo Autoinmune. Vol. 33, Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2017.
 73. Macías Abraham C. Estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo para el diagnóstico de inmunodeficiencias primarias Immunofenotype study by flow cytometry for the diagnosis of primary immunodeficiencies. Vol. 33, Revista Cubana de Hematología, Inmunol y Hemoter. 2017.
 74. Tan EM. Antinuclear Antibodies: Diagnostic Markers for Autoimmune Diseases and Probes for Cell Biology. *Advances in Immunology*. 1989;44(C).
 75. Barrero S, Cuellar A, Rueda N, Cardozo C, Gonzalez JM. Determinacion de valores de linfocitos TCD3⁺, CD3⁺/CD4⁺ y CD3⁺/CD8⁺ por citometria de flujo en adultos donantes de sangre del Hospital Universitario San Ignacio de Bogota. *Acta méd colomb*. 2001;
 76. McKinnon KM. Flow cytometry: An overview. *Current Protocols in Immunology*. 2018;2018.
 77. Doita M, Maeda S, Kawai K, Hirohata K, Sugiyama T. Analysis of lymphocyte subsets of bone marrow in patients with rheumatoid arthritis by two colour immunofluorescence and flow cytometry. *Annals of the Rheumatic Diseases* [Internet]. 1990 Mar 1 [cited 2022 Feb 4];49(3):168–71. Available from: <https://ard.bmj.com/content/49/3/168>
 78. Rodríguez-Eliás AK, Maldonado-Murillo K, López-Mendoza LF, Ramírez-Bello J. Genética y genómica en artritis reumatoide (AR): Una actualización. Vol. 152, *Gaceta Medica de Mexico*. 2016.
 79. Lawson CA, Brown AK, Bejarano V, Douglas SH, Burgoyne CH, Greenstein AS, et al. Early rheumatoid arthritis is associated with a deficit in the CD4⁺CD25^{high} regulatory T cell population in peripheral blood. *Rheumatology*. 2006;45(10).
 80. Pandya JM, Lundell AC, Hallström M, Andersson K, Nordström I, Rudin A. Circulating T helper and T regulatory subsets in untreated early rheumatoid arthritis and healthy control subjects. *Journal of Leukocyte Biology*. 2016;100(4).
 81. Páez Leal M, Gómez L, Anaya J. Implicaciones funcionales de los linfocitos B en el desarrollo de la artritis reumatoide. *MedUNAB*. 2010;9(1).
 82. Leite Pereira A, Bitoun S, Paoletti A, Nocturne G, Marcos Lopez E, Cosma A, et al. Characterization of Phenotypes and Functional Activities of Leukocytes From Rheumatoid Arthritis Patients by Mass Cytometry. *Frontiers in Immunology*. 2019;10.
 83. Cairns AP, Crockard AD, Bell AL. The CD14⁺ CD16⁺ monocyte subset in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Rheumatology International*. 2002;21(5).

84. Molina J. Principales autoanticuerpos en lupus eritematoso sistémico y esclerosis sistémica [Internet]. 1989 [cited 2022 Feb 6]. Available from: <http://actamedicacolombiana.com/anexo/articulos/02-1989-02.pdf>
85. Adrián TBR, Gregor EG mac, Leal J. Citocinas y lupus eritematoso sistémico. *Gaceta Medica de Caracas*. 2009;117(3).
86. Rivero-Jiménez RA. Una mirada al diagnóstico de laboratorio de las enfermedades autoinmunes. Vol. 29, *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2013.
87. Rouquette AM, Desgruelles C, Laroche P. Evaluation of the New Multiplexed Immunoassay, FIDIS, for Simultaneous Quantitative Determination of Antinuclear Antibodies and Comparison with Conventional Methods. *American Journal of Clinical Pathology*. 2003;120(5).
88. Sánchez Parra CC, López MR, Yassin LM, Vásquez Duque GM. Subpoblaciones de linfocitos B y su expresión de CD1d en pacientes con lupus eritematoso sistémico. *Revista Colombiana de Reumatología*. 2013;20(4).
89. Hurtado Montoya Carolina, Vásquez Duque Gloria María, Vásquez Trespalacios Elsa María, Urrego Álvarez Rodrigo Antonio, Agudelo Flórez Piedad Matilde. Subpoblaciones de Células B de pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico y su relación con la actividad de la enfermedad y exposición ambiental. 2020 [cited 2022 Feb 7]; Available from: <https://repository.ces.edu.co/handle/10946/4792>
90. Medrano ME, Ortiz-De-Zárate, Patricia De Santillana-Hernández S, del Pilar Torres-Arreola L, Angélica Gómez-Díaz R, Rivera-Moscoso R, et al. Diagnóstico y tratamiento del hipotiroidismo primario en adultos. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2012;50(1).
91. Aktas G, Sit M, Dikbas O, Erkol H, Altinordu R, Erkus E, et al. Elevated neutrophil-to-lymphocyte ratio in the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis. *Revista da Associacao Medica Brasileira*. 2017;63(12).
92. Ben-Skowronek I, Szewczyk L, Ciechanek R, Korobowicz E. Interactions of lymphocytes, thyrocytes and fibroblasts in hashimoto's thyroiditis: An immunohistochemical and ultrastructural study. *Hormone Research in Paediatrics*. 2011;76(5).
93. Zha B, Huang X, Lin J, Liu J, Hou Y, Wu G. Distribution of lymphocyte subpopulations in thyroid glands of human autoimmune thyroid disease. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. 2014;28(3).
94. Li D, Cai W, Gu R, Zhang Y, Zhang H, Tang K, et al. Th17 cell plays a role in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis in patients. *Clinical Immunology*. 2013;149(3 PB).
95. Solerte SB, Precerutti S, Gazzaruso C, Locatelli E, Zamboni M, Schifino N, et al. Defect of a subpopulation of natural killer immune cells in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis: Normalizing effect of dehydroepiandrosterone sulfate. *European Journal of Endocrinology*. 2005;152(5).
96. Bilge M, Yesilova A, Adas M, Helvaci A. Neutrophil- and Platelet- to Lymphocyte Ratio in Patients with Euthyroid Hashimoto's Thyroiditis. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2019;127(8).
97. Hu Y, Zhang L, Chen H, Liu X, Zheng X, Shi H, et al. Analysis of Regulatory T Cell Subsets and Their Expression of Helios and PD-1 in Patients with Hashimoto Thyroiditis. *International Journal of Endocrinology*. 2019;2019.

98. Rufino Lozano MP. Ritmo circadiano y subpoblaciones linfocitarias en la artritis reumatoide - Dialnet [Internet]. 1992 [cited 2022 May 25]. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=262151>
99. Hidaka Y, Amino N, Iwatani Y, Kaneda T, Nasu M, Mitsuda N, et al. Increase in peripheral natural killer cell activity in patients with autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity*. 1992;11(4).
100. Otero MJ i. Aplicaciones de la citometría de flujo. *Clases*. 2011;17(Figura 1).
101. Herrera Macera SP, Boada Rodríguez LE, Colamarco Navas WG, Boada Rodríguez KG. Aplicación de la citometría de flujo en el diagnóstico de inmunopatía. *RECIAMUC*. 2019;3(1).
102. González-Buitrago JM, González C. Present and future of the autoimmunity laboratory. Vol. 365, *Clinica Chimica Acta*. 2006.
103. Giacomelli R, Afeltra A, Alunno A, Baldini C, Bartoloni-Bocci E, Berardicurti O, et al. International consensus: What else can we do to improve diagnosis and therapeutic strategies in patients affected by autoimmune rheumatic diseases (rheumatoid arthritis, spondyloarthritis, systemic sclerosis, systemic lupus erythematosus, antiphospholipid syndrome and Sjogren's syndrome)?: The unmet needs and the clinical grey zone in autoimmune disease management. Vol. 16, *Autoimmunity Reviews*. 2017.
104. Pérez-Lara JC, Cruz -Wendolaine S, Rodríguez-Alba JC. Fundamentos de Citometría de flujo: Su aplicación diagnóstica en la investigación biomédica y clínica. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana, Portafolio Científico*. 2018;18(2).