

El laboratorio clínico y las enfermedades reumáticas

Dr. JOSE FELIX RESTREPO SUAREZ, MD.

Profesor Asistente de Medicina Interna y Reumatología

Universidad Nacional de Colombia.

Dra. CILIA ROJAS SANABRIA

Bacterióloga.

Profesora Adscrita, Unidad de Reumatología.

Universidad Nacional de Colombia

Dr. ANTONIO IGLESIAS G, MD.

Profesor asociado de Medicina Interna y Reumatología.

Universidad Nacional de Colombia.

Las enfermedades reumáticas constituyen un grupo heterogéneo de patologías que en la mayoría de los casos el diagnóstico se realiza por los hallazgos clínicos, siendo el laboratorio una ayuda que debemos utilizar en forma racional.

Un dato de laboratorio aislado no hace diagnóstico de enfermedad reumática. Así, por ejemplo, la presencia de Anticuerpos Antinucleares positivos no es por si solo diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico (LES), como tampoco un factor reumatoideo positivo implica tener una Artritis Reumatoidea (AR), ni un ácido úrico elevado es patognomónico de Gota. El conocimiento adecuado de estas enfermedades nos permiten utilizar juiciosamente el laboratorio clínico y aprovecharlo al máximo como apoyo diagnóstico y de seguimiento en los pacientes reumáticos. Analizaremos algunas pruebas de laboratorio útiles en nuestra práctica diaria.

Proteínas de fase aguda

Constituyen un grupo heterogéneo de proteínas sintetizadas en el hígado que aumentan sus concentraciones plasmáticas a los pocos días de un estímulo inflamatorio como parte de una respuesta metabólica y sistémica general a la lesión tisular, o a la infección. Estas incluyen proteínas de la coagulación como el fibrinógeno y la protrombina; proteínas de transporte como la haptoglobina, transferrina y ceruloplasmina; componentes del complemento como el C3 y C4;

inhibidores de proteasas como la alfa 1 antitripsina; y proteínas como la albúmina, la fibronectina, la proteína C reactiva y la proteína sérica amiloide A. De todas estas las más utilizadas en la práctica clínica son la determinación de la proteína C reactiva y la prueba de velocidad de sedimentación globular (VSG).

La proteína C reactiva responde rápidamente con los cambios de actividad inflamatoria y es un índice muy sensible de inflamación. Se determina mediante técnicas de látex o turbidimetría. Los valores normales por este método son de hasta 0,5 mg/dl. Valores superiores indican que existe un proceso inflamatorio o lesión tisular en cualquier parte de la economía. En general cuanto mayor es la lesión tisular o el proceso inflamatorio, mayor es la elevación de la PCR. En el LES niveles de PCR de 8 mg/dl o mayores obligan a descartar un proceso infeccioso asociado.

En la Artritis Reumatoidea los niveles de PCR pueden ser de utilidad en el diagnóstico diferencial con la osteoartritis.¹⁻² La presencia de altos niveles de PCR en el inicio de la AR se ha relacionado con pobre pronóstico y enfermedad progresiva y erosiva³. En la Artritis Reumatoidea Juvenil los niveles elevados de la PCR se han asociado con compromiso poliarticular y sistémico pero no con la forma oligoarticular⁴. En los pacientes con Espondilitis Anquilosante se han observado niveles altos de PCR, especialmente en aquellos con artritis periférica o iritis.⁵ Existe controversia respecto al valor de la PCR en el LES. Varios estudios informan sobre la normalidad de la PCR o ligeramente elevada en el LES, aun en pacientes con enfermedad activa y VSG elevada.⁶⁻⁷ La presencia de infección intercurrente en LES se ha asociado con niveles elevados de PCR y se ha sugerido que puede ser de utilidad en el diagnóstico de infección en el LES⁸, para diferenciarla de la actividad de la enfermedad. Sin embargo, se ha

demostrado que la presencia de sinovitis⁹ activa y serositis¹⁰ en LES se asocia con niveles elevados de PCR.

La VSG también se aumenta con la actividad inflamatoria, pero lo hace más lentamente que la PCR. La observamos elevada en el LES activo, la AR activa, la Dermatopolimiositis, las vasculitis sistémicas, pero especialmente en la arteritis de células gigantes y la polimialgia reumática donde se considera un criterio diagnóstico. No obstante, en algunas vasculitis o enfermedades sistémicas del tejido conectivo podemos encontrar la VSG normal, sin que esto excluya el diagnóstico o actividad de la enfermedad..

El método de Westergren es el más utilizado y el más confiable para la determinación de la VSG. (Valores normales: mujeres 20 mm/hora, Hombres 15 mm/hora). Sin embargo, en algunos laboratorios se utiliza el método de Wintrobe.

Factor Reumatoideo

Son anticuerpos dirigidos contra la porción Fc de la inmunoglobulina G (IgG). Estos anticuerpos parecen ser sintetizados en respuesta a inmunoglobulinas que han sido alteradas después de reaccionar con un antígeno. El factor reumatoideo

más común es una inmunoglobulina IgM dirigida contra una IgG, sin embargo, se puede observar del tipo IgG, IgA, o IgE.

El método más específico para su detección es la aglutinación con glóbulos rojos de carnero sensibilizados previamente con IgG (Prueba de Waaler-Rose). En la prueba de aglutinación se utilizan partículas de látex recubiertas con IgG. Los resultados se expresan en títulos de acuerdo a la última dilución en que se observe reactividad. También se puede detectar por ELISA, Nefelometría, o Turbidimetría donde partículas de poliestireno recubiertas con IgG humana reaccionan con factores reumatoideos presentes en el suero humano. Estos últimos métodos han mejorado la sensibilidad y especificidad de la prueba. El factor reumatoideo no es específico para la artritis reumatoidea, de hecho puede encontrarse en el suero de pacientes con enfermedades inflamatorias agudas o crónicas e incluso en población normal. Tabla 1

En los pacientes con AR la prueba es positiva en aproximadamente el 75 al 90% de los casos, sin embargo los resultados varían con la técnica utilizada para su detección. En pacientes mayores de 75 años se ha informado una prevalencia de positividad que varía del 2 al 25%. También

Tabla 1. Enfermedades asociadas con factor reumatoideo positivo

REUMATICAS	Artritis reumatoidea, Lupus eritematoso sistémico, Esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conectivo, Síndrome de Sjögren.
INFECCIONES VIRALES	Mononucleosis, Hepatitis, Influenza, entre otras.
INFECCION PARASITARIA	Tripanosomiasis, Kala-Azar, Malaria, esquistosomiasis, filariasis, etc.
ENFERMEDADES INFLAMATORIAS CRONICAS	Tuberculosis, Lepra, Sífilis, Brucelosis, Endocarditis Bacteriana Subaguda, Salmonelosis.
NEOPLASIAS	Después de irradiación o quimioterapia
OTROS	Púrpura Hipergammaglobulinémica, Crioglobulinemia, Enfermedad hepática crónica, Sarcoidosis

están presentes en Síndrome de Sjögren y con menos frecuencia en otras enfermedades del tejido conjuntivo¹¹

Los pacientes con AR con factor reumatoideo positivo (AR Seropositiva), se comportan desde el punto de vista clínico de manera diferente a los pacientes con AR seronegativas, siendo la enfermedad más agresiva, con compromiso poliarticular, desarrollo temprano de erosiones, presencia de nódulos reumatoideos y manifestaciones extrarticulares. Estos pacientes requieren un tratamiento inmediato con drogas inductoras de remisión.

El factor reumatoideo no obstante que tiene valor pronóstico, no es una prueba útil para medir actividad de la enfermedad, por tanto su determinación en forma repetida no es aconsejable.

Autoanticuerpos

Los autoanticuerpos son inmunoglobulinas dirigidas contra antígenos propios localizados a nivel intracelular (Antígenos nucleares, Antígenos localizados en el citoplasma de Neutrófilos, Antígenos nucleares extractables -ENAS- (Sm., RNP, Ro, La, Jo1, etc), en la membrana celular (Antígenos del HLA), o en el espacio extracelular (Factores de Coagulación). Los métodos de detección de los autoanticuerpos son variados, pero en general cuando estos están dirigidos contra componentes celulares o extracelulares insolubles, la inmunofluorescencia indirecta es el método de elección. Por otro lado los autoanticuerpos dirigidos contra componentes solubles tales como proteínas nucleares, factores de coagulación, etc, se detectan mejor por ELISA, inmunodifusión o contraelectroforénesis. Los autoanticuerpos pueden estar presentes en la población normal, pero usualmente a títulos bajos.

Anticuerpos antinucleares (ANAs)

Son anticuerpos dirigidos contra componentes nucleares. El método más ampliamente utilizado para su detección es la inmunofluorescencia indirecta. Los anticuerpos presentes en el suero humano se unen a Antígenos específicos locali-

zados en los substratos utilizados en la prueba. El substrato más utilizado en la actualidad es una línea celular tumoral epitelial humana conocida como Hep-2 que tiene una gran concentración de antígenos nucleares y citoplasmáticos.¹² Un anticuerpo fluorescente sirve de marcador para esta reacción, mostrando diferentes patrones de inmunofluorescencia: Homogéneo, Periférico, Moteado, Nucleolar, Centromérico) (Figuras 1-5) que se relacionan con el antígeno específico contra el que está dirigido el anticuerpo. Así, por ejemplo, el patrón periférico se observa cuando los anticuerpos están dirigidos contra el DNA nativo de doble cadena; el patrón moteado cuando el anticuerpo está dirigido contra antígenos nucleares extractables como el Ro, Sm, RNP, Jo1, Scl-70, etc. La presencia de un patrón anticentrómero hace sospechar una ESP variedad limitada tipo CREST.

Los Anticuerpos Antinucleares (ANAs) en general son muy sensibles pero poco específicos ya que los podemos encontrar en el suero de pacientes con diversas enfermedades reumáticas como el LES¹³, el Síndrome de Sjögren¹⁴, la Esclerosis Sistémica Progresiva (ESP)¹⁵, la Enfermedad Inflamatoria Muscular¹⁶⁻¹⁷ la enfermedad mixta del tejido conectivo, la AR, ARJ¹⁸, Púrpura de Henoch-Schonlein¹⁹, enfermedades infecciosas, en pacientes que están ingiriendo medicamentos como la procainamida, la hidralazina o la fenitoina, y en otra gran variedad de patologías no relacionadas con enfermedades reumáticas como enfermedad hepática²⁰, lepra²¹, implantes de siliconas²², esquizofrenia²³, demencia²⁴, esclerosis múltiple²⁵, erupción polimorfa solar²⁶, dermatitis atópica²⁷, miastenia gravis²⁸, embarazo²⁹. Nosotros estudiamos 625 sueros de personas normales y encontramos una positividad en hombres de 2,3%, en mujeres de 3,5% y global de 2,9%³⁰.

Por la inespecificidad de los ANAs, recomendamos que se soliciten sólo cuando estemos sospechando una enfermedad reumática o autoinmune. En la tabla 2 observamos los autoanticuerpos más frecuentemente detectados en las enfermedades reumáticas, y en la Figura 6 un algoritmo para el uso de los ANAs en las enfermedades reumáticas³¹.



Figura 1. ANAs (+). Patrón Homogéneo. Substrato línea celular HEP 2. Técnica: IFI.



Figura 2. ANAs (+). Patrón Periférico. Substrato línea celular HEP 2. Técnica: IFI



Figura 3. ANAs (+). Patrón Moteado. Substrato línea celular HEP 2. Técnica: IFI



Figura 5. ANAs (+). Patrón Centrómico. Substrato línea celular HEP 2. Técnica: IFI



Figura 4 . ANAs (+). Patrón Nucleolar. Substrato línea celular HEP 2. Técnica: IFI

Anticuerpos anti DNA nativo (DNAn)

Son importantes en la patogénesis del LES y su presencia a títulos altos usualmente se correlaciona con enfermedad activa o presencia de nefritis. No obstante puede encontrarse títulos bajos de anti DNA en el Lupus inducido por medicamentos, la artritis reumatoidea, el Síndrome de Sjögren, infecciones crónicas, enfermedad

Tabla 2. Autoanticuerpos detectados en pacientes con enfermedades del tejido conectivo

Autoanticuerpo	Frecuencia de ocurrencia	Comentarios
ANA	LES 95%, otras ETC	Sensible pero no específico para enfermedades del tejido conectivo
DNA de doble cadena	LES 30-70%, HAC	Específico pero no sensible: Los niveles correlacionan con la actividad de la enfermedad
Sm	LES < 30%	Específico pero no sensible para LES
U ₁ RNP	EMTC; LES, 40%, otras ETC	Por definición presente en la EMTC
Anti-SS-A/Ro	SS, 75%; LES, 25%; otras ETC	Evidente con compromiso de piel en LES. BCC en niños de mujeres con este anticuerpo
Anti SS-B/La	SS, 40%; LES, 10%; otras ETC	Usualmente ocurre con SS-A/Ro
Anti-Histona	LES inducido por drogas, >90%; LES idiopático, >50%; AR y Felty ocasionalmente	No específico pero si sensible para LES inducido por medicamentos
Anti-Centrómero	Síndrome CREST, > 80%	Patrón de tinción de ANA relativamente específico y sensible para CREST
Anti-Scl 70	Esclerosis Sistémica Progresiva (ESP), 26-76%	Específico pero no sensible para ESP
c-ANCA	GW activa, >90%	Los títulos tienden a variar con la actividad de la enfermedad
p-ANCA	GW, 10%; otras vasculitis, GN, EII	Menos específico y sensible para GW que los c-ANCA
Factor Reumatoideo	AR, 80%; SS, 50%; otras ETC	Altos niveles tienden a correlacionar con AR severa

ANA: Anticuerpos Antinucleares; ETC: Enfermedad del tejido conectivo; BCC: Bloqueo cardíaco congénito; ESP: Esclerosis sistémica progresiva; EMTC: Enfermedad mixta del tejido conectivo; EII: Enfermedad inflamatoria intestinal; HAC: Hepatitis activa crónica; c-ANCA: Anticuerpo anticitoplasma de los neutrófilos con patrón citoplasmático; p-ANCA: Anticuerpo anticitoplasma de los neutrófilos con patrón perinuclear; LES: Lupus eritematoso sistémico; CREST: Calcinosi cutis, Fenómeno de Raynaud, disfunción esofágica, esclerodactilia y telangiectasias; SS: Síndrome de Sjögren; GW: Granulomatosis de Wegener; GN: Glomerulonefritis; AR: Artritis reumatoidea. (Tomado de: Moder KG. Use and interpretation of rheumatologic test. A guide for clinicians. Mayo Clin Proc 1996; 71: 391-396)³²

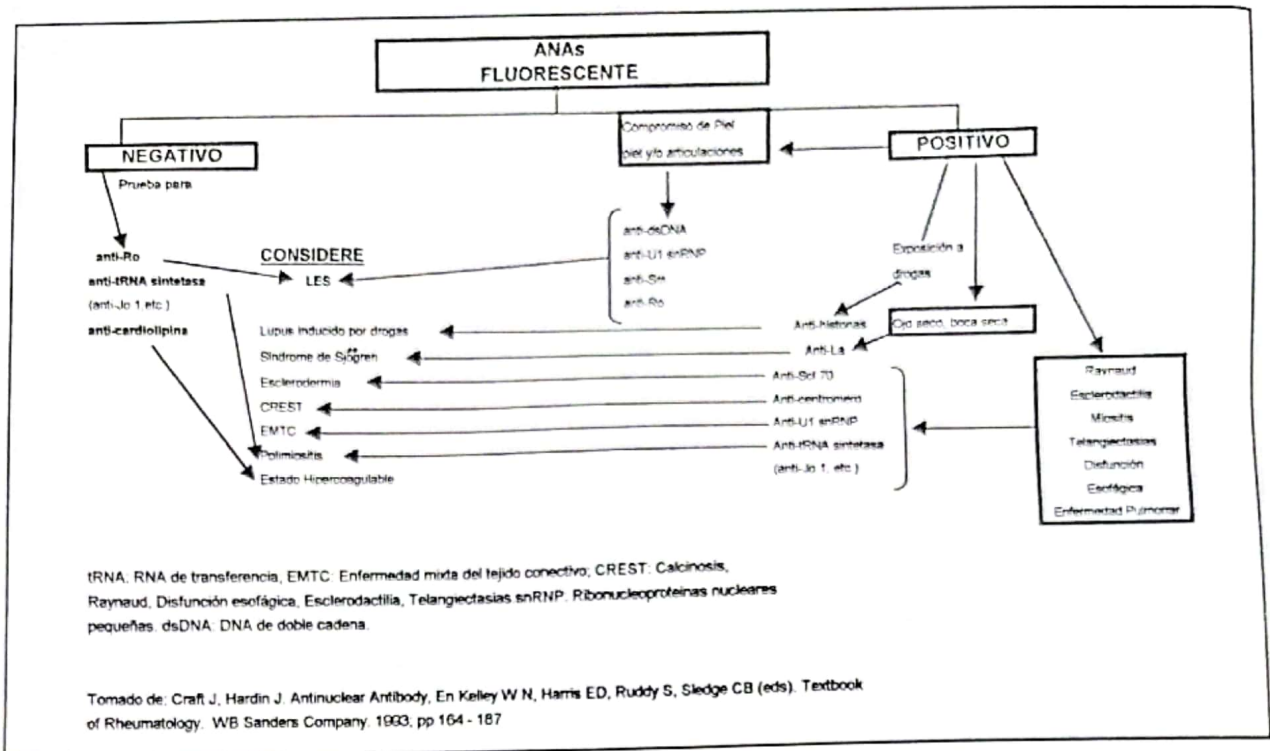


Figura 6. Algoritmo para el uso de los anticuerpos antinucleares (ANAs) en el diagnóstico de las enfermedades de tejido conectivo.

hepática crónica o la edad avanzada. Las pruebas más utilizadas para la detección del anti-DNA son Farr, ELISA e IFI. En la técnica de Farr un DNA radiomarcado se adiciona al suero en estudio, y las inmunoglobulinas son precipitadas con sulfato de amonio. La radioactividad en el precipitado indica la unión del DNA al anti-DNA. Por este método pueden detectarse tanto IgG como IgM de alta avidéz por el antígeno. Por ELISA, el DNA de doble cadena es colocado en los platos y a éstos se adiciona el suero en estudio. Después de un tiempo específico en que han permanecido en contacto se lavan los platos y se adiciona un segundo anticuerpo (Anti-anticuerpo) marcado con una enzima. Nuevamente se lava y si hay inmunoglobulinas fijadas al DNA, al adicionar un sustrato para que la enzima actúe, se produce un cambio de color cuya intensidad es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes que al actuar produce un cambio de coloración que es leída en un microlector. Esta prueba permite medir anticuerpos de alta y baja afinidad tanto del isotipo IgG como IgM. Los sustratos co-

merciales disponibles para la realización de esta técnica con frecuencia contienen cantidades significantes de DNA de cadena sencilla al igual que de DNA de doble cadena. De este modo, los bajos niveles de antiDNA detectados por ésta técnica casi siempre son contra el DNA de cadena sencilla. Las correlaciones clínicas deben hacerse casi siempre ante la presencia de niveles altos de anti-DNA. En la IFI el sustrato es la Crithidia lucilliae es un flagelado que contiene un kinetoplasto dentro del cual existe DNA circular de doble cadena. Es esta técnica la crithidia, dispuesta en placas comerciales, se pone en contacto con el suero en estudio. Después de lavar, se adiciona un anticuerpo de tipo IgG marcado con fluoresceína y se lee en un microscopio de fluorescencia (Figura 7). Esta prueba es la más específica para detectar el DNA de doble cadena y su positividad es altamente específica de LES. La presencia de DNA de doble cadena se correlaciona con enfermedad renal y los niveles del mismo también se han correlacionado con enfermedad activa, sin embargo esto no se ob-



Figura 7. DNA (+). Substrato *Crithidia Lucilliae*. Técnica: IFI.

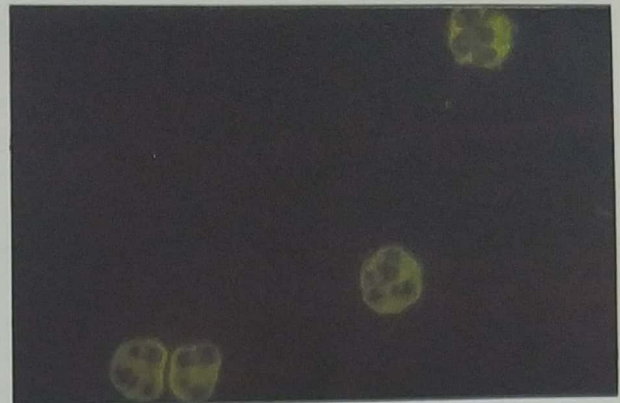


Figura 8. Patrón cANCA. Citoplasma completamente teñido por la inmunofluorescencia. Substrato neutrófilos fijados en etanol. Técnica: IFI.



Figura 9. Patrón pANCA. Periferia del núcleo captando la inmunofluorescencia. Substrato neutrófilos fijados en etanol. Técnica: IFI.

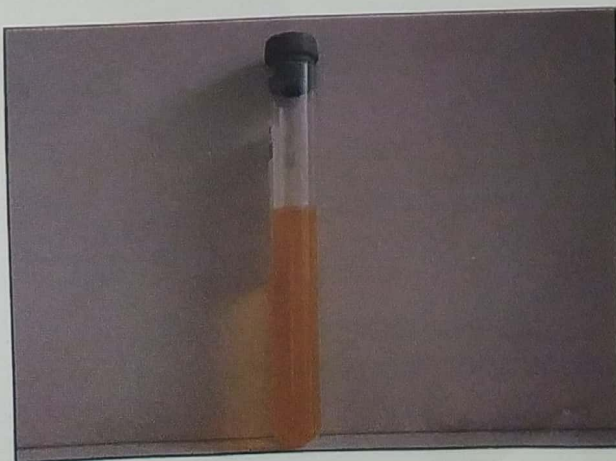


Figura 10. Líquido sinovial inflamatorio.

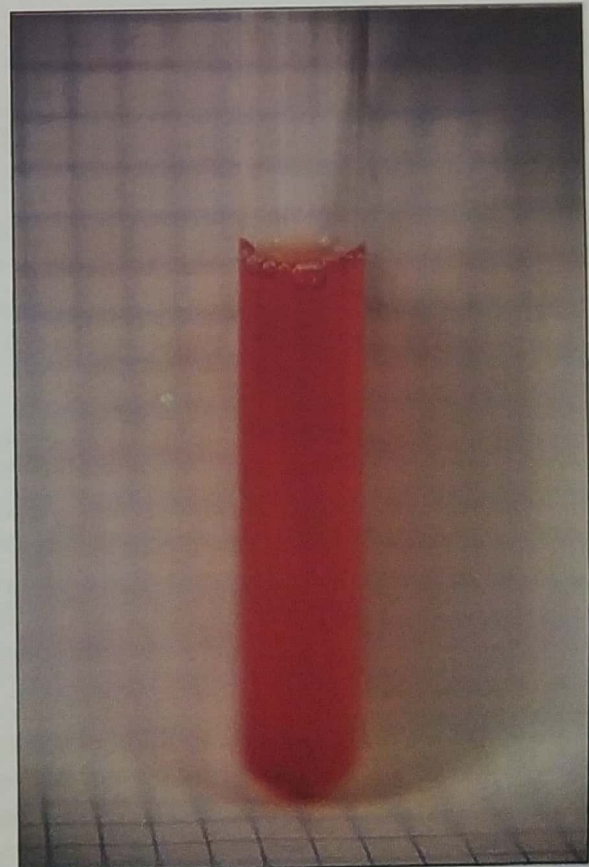


Figura 11. Líquido sinovial hemorrágico.

serva en todos los pacientes. Lo que sí se ha visto es que aquellos pacientes que elevan los títulos de DNA durante las activaciones de la enfermedad, muy probablemente lo siguen haciendo posteriormente durante las mismas³⁰. Los anticuerpos para DNA de cadena sencilla tienen menos utilidad clínica. Los anticuerpos antihistonas, que son de este tipo, se han observado hasta en el 95% de los pacientes con LES inducido por medicamentos, pero también en más del 50% de pacientes con LES idiopático, de modo que la ausencia de ellos hace improbable el LES inducido por medicamentos, pero su presencia de ninguna manera lo confirma, por lo que siempre debe valorarse al paciente en el contexto clínico. Los pacientes con LES inducido por drogas, usualmente tienen títulos altos de ANAs, ausencia de DNA de doble cadena y hallazgos clínicos de LES pero con ausencia o escaso compromiso renal y del sistema nervioso central.

Antígenos nucleares extractables (ENAs)

Hacen parte de una gran variedad de antígenos contra los cuales se dirigen una serie de autoanticuerpos. Se caracterizan por tener una carga electronegativa y por estar constituidos por partículas pequeñas de ribonucleoproteínas ácidas.

Sm: Glicoproteína no histona, es marcador serológico específico de LES, pero con poca sensibilidad

U₁RNP: Anticuerpos para U₁RNP se encuentran en pacientes con LES y Enfermedad Mixta del Tejido Conectivo (EMTC). La EMTC es un tipo específico de Síndrome de superposición en donde los pacientes tienen características de varias enfermedades del tejido conectivo, pero que por definición es indispensable la presencia del anticuerpo para la U₁RNP.³³

SS-A/Ro y SS-B/ La: Constituyen un complejo RNA – proteínas y se detectan Acs contra este complejo en pacientes con Síndrome de Sjögren y LES. Puede verse en otras enfermedades del tejido conectivo con o sin Síndrome de Sjögren secundario. La presencia del Anti SS-A/Ro se ha asociado a compromiso de piel y

fotosensibilidad³⁴, se ha observado hasta en el 25% de los pacientes con LES y los niños nacidos de madres con este anticuerpo tiene una incidencia aumentada de bloqueo cardíaco congénito.³⁵

Nosotros describimos una paciente de 21 años con LES y bloqueo aurículo-ventricular completo con anti-Ro (+), siendo el quinto caso descrito en la literatura en un paciente adulto³⁶. Los anticuerpos SS-B/La usualmente acompañan a los anti SS-A/Ro; se observan también en el Síndrome de Sjögren y en LES pero en menor proporción que los SS-A/Ro. La presencia de este solo anticuerpo (excepto los ANAs) en pacientes con LES sugiere un curso leve de la enfermedad.³⁷

Scl-70: Anticuerpos para el antígeno Scl-70 conocido como DNA-topoisomerasa 1 y se detectan en pacientes con Esclerodermia, especialmente de la variedad difusa. La prevalencia de este anticuerpo en estos pacientes se ha estimado de 26 a 76%³⁸

Recientemente, con el avance de la tipificación serológica, se ha realizado una clasificación de las miopatías inflamatorias utilizando los autoanticuerpos producidos por estos pacientes como método para definir grupos homogéneos de pacientes.³⁹

Jo-1: La determinación del anti-Jo-1 es importante en la determinación del pronóstico de estos pacientes con enfermedad inflamatoria muscular. La positividad del mismo sugiere que el paciente va a tener una enfermedad mas agresiva con compromiso pulmonar importante y que requiere igualmente tratamiento mas agresivo desde el inicio. La supervivencia de los pacientes con este anticuerpo está disminuida en comparación con los que no lo tienen.⁴⁰ En la Tabla 3 se observan otros anticuerpos con su respectiva correlación clínica.

Anticuerpos contra el citoplasma de los neutrófilos (ANCAS)

Los anticuerpos contra antígenos del citoplasma de los neutrófilos corresponden a un grupo de anticuerpos dirigidos contra componentes de los gránulos primarios y secundarios de los

Tabla 3. Clasificación serológica de las miopatías inflamatorias

CATEGORÍA SEROLÓGICA ASOCIACIONES Y COMENTARIOS AUTOANTICUERPOS ESPECIFICOS DE MIOSITIS	
Antisintetasa*	Vistos con una alta frecuencia en la artritis simétrica no erosiva, enfermedad pulmonar intersticial, fiebre, manos de mecánico, fenómeno de Raynaud, HLA-DR3, DQA1*0501; con frecuencia ocurre como una miositis aguda, severa, con ataque en la primavera, respuesta moderada a la terapia, exacerbación de la miositis con la suspensión de la terapia; se observa en el 20-25% de todos los casos de miositis.
Anti partícula de reconocimiento de señal	Compromiso cardíaco con frecuentes palpitaciones y mialgias, HLA-DR5,DQA1*0301; polimiositis severa de ataque muy agudo en el otoño; la mayoría son mujeres negras; pobre respuesta a la terapia; vistos en < 5% de pacientes con miositis.
Anti-Mi-2	Dermatomiositis Clásica con el signo de la V del cuello, signo del pañolón, crecimiento cuticular, HLA-DR7,DQA1*0201; buena respuesta a la terapia; vista en el 5-10% de pacientes con miositis.
Anti-Mas	Polimiositis que sigue a la rabdomiolisis alcohólica
Anti-Fer	Vista en menos del 1% de pacientes con miositis
Anti-KJ	Polimiositis, enfermedad pulmonar intersticial, fenómeno de Raynaud.
Ninguno de los anteriores	Un grupo heterogéneo de pacientes probablemente compuesto por un subgrupo aún no definido.
AUTOANTICUERPOS ASOCIADOS A MIOSITIS	
Anti-Pm-Scl	Alta incidencia de esclerodermia/síndrome de superposición, HLA-DR3, Dqw2, buena respuesta a la terapia.
Anti-Ku	Visto primariamente en esclerodermia/ síndrome de superposición.
Anti-U ₁ RNP	Visto primariamente en síndrome de superposición
Anti-U ₂ RNP	Asociado con escleroderma/Síndrome de superposición.

* Incluye pacientes con anticuerpos **anti-Jo-1** que son dirigidos contra la sintetasa de histidil-tRNA y aquellos con autoanticuerpos contra la treonil-, alanil-, isoleucil-, y glicil-tRNA sintetasa.

Los anticuerpos específicos de miositis sólo se encuentran en pacientes con miositis; Los anticuerpos asociados a miositis pueden también encontrarse en otras enfermedades autoinmunes.

neutrófilos, los monocitos y células endoteliales. Tienen una mayor especificidad por la Mieloperoxidasa (MPO) de los gránulos primarios y por la Proteinasa-3 (PR-3) aunque también se dirigen contra otros determinantes antigénicos que incluyen la Elastasa, la Catepsina, la Lactoferrina, la Lisozima, y la Beta-Glucoronidasa⁴¹⁻⁴⁴.

Las pruebas más utilizadas para su detección son la Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y el método de ELISA. En la IFI se utilizan neutrófilos como substrato que se obtienen de sangre periférica de donantes sanos. Los neutrófilos son fijados con etanol, que permite que los antígenos sean expuestos y que la MPO debido a que tiene un punto isoeléctrico alto (mayor de 10), migre hacia la periferia del núcleo.

El suero diluido del paciente se coloca sobre el substrato; después de lavar se adiciona un anticuerpo IgG marcado con fluoresceína y se lee en un microscopio de fluorescencia. Se observan dos patrones de inmunofluorescencia: En el patrón citoplasmático (cANCA) el citoplasma se tiñe completamente y en el patrón perinuclear (pANCA) sólo se tiñe la periferia del núcleo (Figuras 8, 9). En el patrón cANCA el antígeno contra el cual está dirigido el anticuerpo es la proteinasa 3, mientras que en el patrón pANCA son una variedad de enzimas como la mieloperoxidasa, elastasa o lactoferrina.

La prueba de ELISA se utiliza cuando se desea determinar anticuerpos específicos para los diferentes antígenos purificados adheridos en los pozos.

Estos anticuerpos se han descrito en varias formas de vasculitis sistémicas. El patrón cANCA tiene una alta especificidad para la granulomatosis de Wegener, pero puede observarse en otras vasculitis sistémicas como el síndrome de Churg Strauss, la poliangeitis microscópica, la poliarteritis nodosa, o la glomerulonefritis rápidamente progresiva. El patrón pANCA es menos específico y puede encontrarse en la glomerulonefritis rápidamente progresiva, las enfermedades colágeno vasculares

como el LES, la polidermatomiositis, el Síndrome de Sjögren; las enfermedades reumáticas como la artritis reumatoidea, el síndrome de Felty, la artritis psoriática, el síndrome de Still, la espondilitis anquilosante, las artritis reactivas, o en la enfermedad inflamatoria intestinal como la colitis ulcerativa o la enfermedad de Crohn.⁴⁵⁻⁴⁹ Recientemente en un estudio realizado por nosotros encontramos una incidencia de pANCAs en LES de 45% y de AR del 15%, por lo que consideramos que la presencia de este patrón de ANCAs podría considerarse como indicador de inflamación y no como marcador de una enfermedad específica.⁵⁰

Debido a la alta especificidad de los cANCA para la granulomatosis de Wegener, esta prueba constituye una ayuda diagnóstica para esta enfermedad. Aquellos pacientes con cANCA positivos sin signos o síntomas característicos de esta patología, deben ser seguidos en el tiempo por la eventualidad de desarrollarla posteriormente. Puede también detectarse estos anticuerpos por pruebas de micro-ELISA Anticuerpos específicos para Mieloperoxidasa (MPO) y Proteinasa -3 (PR-3).

Anticardiolipinas

Se encuentran con frecuencia en pacientes con LES y otras enfermedades autoinmunes. El síndrome antifosfolípido se caracteriza por un riesgo incrementado de trombosis arterial o venosa, abortos espontáneos y trombocitopenia. Dichos anticuerpos se unen a fosfolípidos de carga negativa siendo el más común la Cardiolipina. Aunque el mecanismo propio de unión de los aCL no ha sido aclarado en su totalidad, se llegó a establecer que algunos anticuerpos de pacientes con enfermedad autoinmune no se unían al antígeno, sino que era necesaria la existencia de un cofactor para que la unión ocurriera. Este cofactor se identificó posteriormente como B2 Glicoproteína 1 que es una proteína de 50 kd la cual es un inhibidor natural de la coagulación. Además se demostró que anticuerpos de pacientes sin enfermedad autoinmune se unían a la cardiolipina en ausencia del cofactor.

El valor clínico del isotipo del anticuerpo aún es discutido. Se ha sugerido que el tipo IgG está más asociado con trombosis venosa, el IgM con trombosis arterial y la detección de niveles elevados de IgA se asocian con síndrome primario de antifosfolípidos.

Su determinación se hace por técnicas de ELISA, y los valores de IgG e IgM se reportan en unidades GpL y MpL respectivamente.

Complemento

La cascada del complemento es una serie de más de 20 proteínas biológicamente activas y sus inhibidores producidas en el Hígado que constituyen del 2 al 3 % del total de proteínas plasmáticas. El término complemento fue originalmente utilizado para denotar la presencia de una sustancia lábil al calor presente en el suero de personas normales que se requería para "completar" la muerte de bacterias gram-negativas por los anticuerpos. Estas proteínas actúan secuencialmente para mediar una variedad de efectos inflamatorios, tales como la alteración de la permeabilidad vascular, la atracción de leucocitos, su inmovilización en el sitio de inflamación, y el aumento de la capacidad fagocítica de algunas células cuando la partícula a ingerir está recubierta por estas proteínas. La cascada es activada por diversos agentes a través de dos vías: La clásica y la alterna. Cualquiera de las dos que inicie su activación finalmente conduce a una vía común que constituye el complejo de ataque a la membrana conformado por las proteínas C5b-C9.

Teniendo en cuenta que las proteínas del complemento tienen actividad hemolítica, la prueba que más se ha utilizado como método de tamizaje es la determinación del complemento hemolítico 50 (CH50), que consiste en la capacidad del suero u otros fluidos corporales de lisar el 50% de una suspensión estándar de eritrocitos de carnero recubiertos con anticuerpos de conejo en una reacción que se realiza a través de la vía clásica de activación. Un nivel bajo sugiere un consumo del complemento o una deficiencia de uno o más de sus componentes. La activación del complemen-

to se realiza generalmente por complejos inmunes que se han formado en pacientes con diversas enfermedades reumáticas. Un nivel bajo del mismo en tales pacientes puede ser un indicador de consumo de tales proteínas. Algunas enfermedades caracterizadas por la formación de complejos inmunes e hipocomplementemia incluyen LES, especialmente con nefritis activa, glomerulonefritis proliferativa idiopática, crioglobulinemia, glomerulonefritis poststreptocócica, vasculitis sistémicas o la enfermedad del suero.

La concentración de proteínas del complemento también pueden medirse individualmente por inmunoensayo o turbidimetría con anticuerpos específicos para la proteína en cuestión.

La determinación de los niveles de los componentes C3 y C4 son los más utilizados, por técnicas de inmunodifusión radial o turbidimetría donde estas fracciones presentes en el suero forman inmunocomplejos en una reacción inmunoquímica con Anticuerpos específicos. Estos componentes los encontramos disminuidos en enfermedades que consumen complemento cuando están activas como en la Nefritis Lúpica.. En casos en que la activación se realice por la vía clásica usualmente vamos a encontrar ambos componentes disminuidos y cuando se realiza la activación por la vía alterna, se consume fundamentalmente el C3, como ocurre en la glomerulonefritis poststreptocócica.

Las deficiencias hereditarias del complemento causan hipocomplementemia y en algunos casos pueden ocasionar enfermedades como el LES, especialmente con la deficiencia de los componentes C2 o C1. Todo paciente en quien sospechemos un LES y los ANAs sean negativos, debemos determinarles niveles de C3, CH50 y determinación de anti-Ro. No hay que olvidar que existen entidades en las que no media un mecanismo de complejos inmunes en su patogénesis en las que se han encontrado niveles reducidos de complemento como embolización ateromatosa, síndrome hemolítico urémico, choque séptico, falla hepática, malnutrición severa, pancreatitis, quemaduras extensas, malaria con hemólisis y algunos casos de porfiria.

Líquido sinovial

El líquido sinovial es un ultrafiltrado del plasma, con solo pequeñas cantidades de proteínas de alto peso molecular como el fibrinógeno, globulinas del complemento, y otras inmunoglobulinas, a las cuales se les ha adicionado hialuronato producido por la membrana sinovial. Puede contener células pero en escasa cantidad y con predominio de los linfocitos. El examen del líquido sinovial es con frecuencia considerado como la prueba más útil en reumatología. Debería ser realizado como parte de la evaluación diagnóstica en cualquier paciente con enfermedad articular. Tan sólo se requieren pequeñas cantidades de líquido para el examen e incluso en algunos casos unas pocas gotas son suficientes. Algunas enfermedades como la gota, la condrocalcinosis y la artritis séptica pueden ser diagnosticadas con el estudio del líquido sinovial. El análisis del líquido sinovial provee al médico de una valiosa información acerca de lo que está ocurriendo en la articulación. Una de los aspectos a resolver en el análisis del líquido sinovial es determinar si es inflamatorio o no inflamatorio. Una norma utilizada es considerar el líquido no inflamatorio si el recuento celular es menor de 2000 mm³. Sin embargo, esto no puede tomarse de manera absoluta y siempre es necesario hacer una correlación clínica.

En muchos casos pueden coexistir dos o más entidades y el diagnóstico sólo puede hacerse con el análisis del líquido sinovial. Por ejemplo, la AR puede coexistir con la artritis inducida por cristales, como la gota (Cristales de urato monosódico) o la Pseudogota o Condrocalcinosis (Cristales de Pirofosfato de Calcio). Puede coexistir gota o condrocalcinosis, AR con artritis séptica sobreagregada, Hemartrosis con artritis séptica, etc. El aspecto del líquido sinovial es importante para el diagnóstico. En la artritis infecciosa es purulento, en la sinovitis villonodular pigmentaria o en la hemofilia, es hemorrágico y cuando es inflamatorio se observa amarillo intenso. (Figuras 10-12). La presencia e identificación de los cristales se hace a través del análisis del líquido en el microscopio. El análisis con luz

polarizada permite la mejor identificación de estos microcristales por su índice de refracción y los cambios de color de acuerdo al eje del polarizador (Figuras 13-16). Una de las razones más importantes para realizar el estudio del líquido sinovial es descartar un proceso infeccioso en una articulación inflamada.⁵¹

La artrocentesis, que es el procedimiento mediante el cual se extrae el líquido sinovial para su estudio, es diagnóstica y terapéutica. Cuando existe un derrame articular importante y se encuentra a tensión, la extracción de líquido puede resultar en mejoría sintomática del dolor y teóricamente en reducción del daño articular ya que son removidos los productos proinflamatorios contenidos en éste. En la artritis infecciosa la artrocentesis debe realizarse periódicamente en conjunto con la administración de antibióticos como parte del tratamiento. En la Tabla 4 observamos una clasificación de líquido sinovial.

Complejos inmunes circulantes

Los complejos inmunes se forman cuando un anticuerpo se une de manera no covalente a su antígeno. En la respuesta inmune normal cuando un organismo es expuesto a un antígeno extraño se producen los anticuerpos que se unen al antígeno. La formación de los complejos inmunes lleva al agrupamiento de inmunoglobulinas alrededor del antígeno; al unirse los fragmentos Fc de muchas inmunoglobulinas, los complejos inmunes adquieren nuevas propiedades biológicas tales como la capacidad para fijar complemento e interactuar con diversas células. El LES es considerado el prototipo de enfermedad que es mediada por complejos inmunes. Sin embargo, los complejos inmunes circulantes juegan un papel importante en la patogénesis de otras enfermedades reumáticas y las vasculitis sistémicas. En algunas ocasiones pueden detectarse niveles bajos de complejos inmunes circulantes en personas normales. Las concentraciones altas de los mismos generalmente se observan en enfermedades reumáticas activas, vasculitis, enfermedades infecciosas y en algunas neoplasias. En muchas de ellas el papel exacto de los complejos

Tabla 4. Clasificación del líquido sinovial

PARAMETRO EXAMINADO	NORMAL	NO INFLAMATORIO GRUPO I	INFLAMATORIO GRUPO II	SEPTICO GRUPO III
Volúmen (Rodilla)	Menor de 3.5ml	Mayor de 3.5ml	Mayor de 3.5ml	Mayor de 3.5ml
Viscosidad	Alta	Alta	Baja	Variable
Color Sin color a color Paja	De color paja a Amarillo	Amarillo	Variable	
Glóbulos Blancos mm ³	Menor de 200	200 a 2000	2000 a 75000	Mayor de 100000
Neutrófilos (%)	Menor de 25	Menor de 25	Mayor de 50	Mayor de 75
Cultivo	Negativo	Negativo positivo	Frecuentemente	
Coágulo de Mucina Glucosa (En ayunas)	Firme Igual a la sanguínea	Firme Igual a la sanguínea	Friable 50% menor a la sanguínea	Friable 50% mayor a la sanguínea

inmunes en su patogénesis no ha sido claramente establecido.

Existen diferentes métodos para medir los complejos inmunes, pero ninguno de los existentes en la actualidad tienen una sensibilidad y especificidad alta como para utilizarlos de rutina en la práctica clínica o basar el diagnóstico o el tratamiento de las enfermedades con base en los resultados de los mismos.

Las pruebas más utilizadas son la fijación del complemento, la unión al C1q, y la unión a las células de Raji.

HLA-B27

Existe una fuerte asociación entre el alelo HLA-B27 y las espondiloartropatías por lo que podría constituirse en un marcador genético potencialmente útil en la evaluación de este tipo de pacientes. En la población americana se ha encontrado una correlación importante entre este marcador y la presencia de Espondilitis Anquilosante, Síndrome de Reiter, Enfermedad Inflamatoria Intestinal con artropatía, y Espondiloartropatía Psoriática. Las personas que tengan presente este marcador tienen un riesgo

relativo incrementado para el desarrollo de estas espondilitis comparados con la población normal. En nuestro medio no existen estudios de esta naturaleza, por tanto, aunque puede ser de utilidad en el diagnóstico de éstas patologías, no podemos hablar de riesgos relativos sin que se haya establecido la frecuencia de este alelo en la población normal, su determinación se hace a través de una prueba de microcitotoxicidad.

Otros estudios

Dentro de la valoración del paciente reumático existen otras pruebas de laboratorio destinadas a examinar la actividad de una enfermedad específica o el compromiso de otros órganos en el caso de enfermedades sistémicas. Así, por ejemplo, en los pacientes con dermatopolimiositis la determinación de las enzimas musculares como la CPK total, la aldolasa, las transaminasas (AST, ALT) son de utilidad no sólo en el diagnóstico sino en la valoración del compromiso y la actividad de la enfermedad. La determinación de ácido úrico puede ser útil en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con gota. Los pacientes con LES con frecuencia presentan daño renal

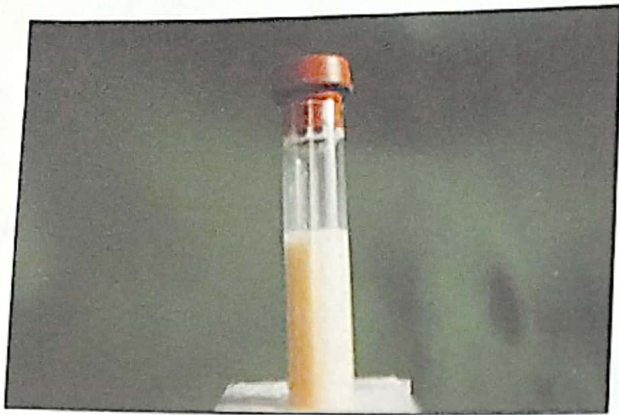


Figura 12. Líquido sinovial purulento.

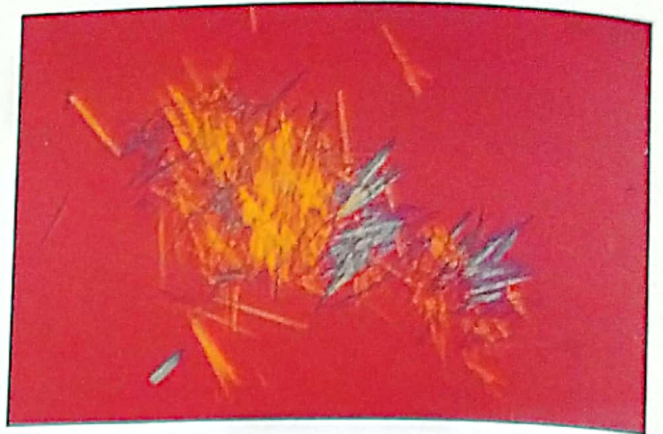


Figura 13. Líquido Sinovial. Cristales de Urato monosódico.



Figura 14. Líquido Sinovial. Cristales de Pirofosfato de Calcio, fagocitado por polimorfonuclear.



Figura 15. Líquido Sinovial. Cristales de Colesterol.

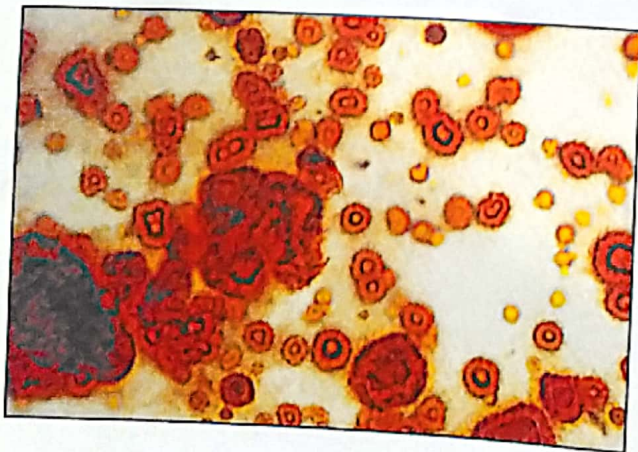


Figura 16. Líquido Sinovial. Cristales de Hidroxiapatita. Tinción con rojo de alizarina.

por lo que hay que efectuar con frecuencia pruebas como el uroanálisis, la depuración de la creatinina y la proteinuria en orina de 24 horas para evaluar la función renal y establecer medidas terapéuticas adecuadas. La utilización de medicamentos obliga en la mayoría de los casos realizar un seguimiento estricto del cuadro hemático, pruebas de función hepática y renal, para detectar a tiempo efectos secundarios susceptibles de tratamiento.

Referencias

1. Rowe IF et al. Comparative studies of serum and synovial fluid C-reactive protein concentrations. *Ann Rheum Dis* 1987; 46: 721-726.
2. Sukenik S, et al. Serum and synovial fluid levels of serum amiloidA protein and C-reactive protein in inflammatory and noninflammatoiry arthritis. *J Rheumato* 1988; 15: 942-945.
3. Amos RS, et al. Rheumatoid arthritis: Relation of C-Reactive protein and erythrocytes sedimentation rates to radiographic changes. *Br Med J* 1977; 1: 195-197.
4. Gwyther M, et al. C-reactive protein in juvenile chronic arthritis: An indicator of diseases activity and possibly amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 1982; 41: 259-262.
5. Laurent MR, Panayi GS. Acute-phase proteins and serum immunoglobulins in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 1983; 42: 524-528.
6. Becker GJ, et al. Value of serum C-reactive protein measurement in the investigation of fever in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1980; 39: 50-52.
7. Honing S, Gorevic P, Weissman G. C-reactive protein in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1977; 20: 1065-1070.
8. Pepys MB et al. Clinical measurement of serum C-reactive protein in monitoring and differential diagnostic of inflammatory diseases and tissues necrosis and in the recognition and management of intercurrent infection. *Ann NY Acad Sci* 1982; 389: 459-460.
9. TerBorg E, et al. C-reactive protein levels during disease exacerbations and infections in systemic lupus erythematosus. A prospective longitudinal study. *J Rheumatol* 1990; 17: 1642-1648.
10. Moutsopoulos HM, et al: High C-reactive protein response in lupus polyarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1983; 1: 53-55.
11. Wolfe F, Cathey MA, Roberts FK. The latex test revisited: rheumatoid factor testing in 8287 rheumatic disease patients. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 951-960.
12. Fritzler MJ. Immunofluorescent antinuclear antibody test. In rose NR, de Macario EC, Fahey JL, Friedman H, Penn GM (eds). *Manual of clinical laboratory Immunology*. Washington, DC, American Society for Microbiology, 1992; 724.
13. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277.
14. Harley JB, Alexander EL, Bias WB, et al. Anti-Ro (SS-A) and Anti-La (SS-B) in patients with Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 196-206.
15. Bernstein RM, Steigerwald JC, Tan EM. Association of antinuclear and antinucleolar antibodies in progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1982; 48: 43-51.
16. Love LA, Leff RL, Fraser DD, et al. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: Myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patients groups. *Medicine* 1991; 70: 360-374.
17. Reichlin M, Arnett FC. Multiplicity of antibodies in myositis sera. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 1150-1156.
18. Lawrence J III, Moore TL, Osborn TG, et al. Autoantibody studies in juvenile rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1993; 22: 265-274.
19. Garber ME, Mohr BW, Calabrese LH. Henoch-Schonlein purpura associated with anti-Ro (SS-A) and antiphospholipid antibody syndrome. *J Rheumatol* 1993; 20: 1964-1966.
20. Imai H, Nakano Y, Kiyosawa K, Tan EM. Increasing titers and changing specificities of antinuclear antibodies in patients with chronic liver disease who develop hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1993; 71: 26-35.
21. Garcia-De la Torre I. Autoimmune phenomena in leprosy, particularly antinuclear antibodies and rheumatoid factor. *J Rheumatol* 1993; 20: 900-903.
22. Bridges AJ. Autoantibodies in patients with silicone implants. *Semin Arthritis Rheum* 1994; 24: 54-60.
23. Sirota P, Firer MA, Schild K, Tanay A, Elizur A, Meytes D, Slor H, et al. Autoantibodies to DNA in multicase families with schizophrenia. *Biol Psychol* 1993; 33: 450-455.
24. Mecocci P, Ekman R, Parnetti L, Senin U. Antihistone and anti-dsDNA autoantibodies in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Biol Psychiatry* 1993; 34: 380-385.
25. Bamed S, Goodman AD, Mattson DH. Frequency of antinuclear antibody in multiple sclerosis. *Neurology* 1995; 45: 384-385.
26. Kiss M, Husz S, Dobozy A. The occurrence of antinuclear, anti-SSA/Ro and anti-SSB/La antibodies in patients with polymorphous light eruption. *Acta Derm Venereol* 1991; 71: 341-343.

27. Taniguchi Y, Yamakami A, Sakamoto T, Nakamura Y, Okada H, Tanaka H, et al. Positive antinuclear antibody in atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1992; 176: 62-64.
28. Lindsey JW, Albers GW, Steinman L. Recurrent transverse myelitis, myasthenia gravis, and autoantibodies. *Ann Neurol* 1992; 32: 407-409.
29. Kiuttu J, Hartikinen-Sorri AL, Makitalo R. Occurrence of antinuclear antibodies in an unselected pregnancy population. *Gynecol Obstet Invest* 1992; 33: 21-25.
30. Núñez C, Ruiz C, Barrera N, Restrepo JF, Sánchez A. Prevalencia de anticuerpos antinucleares en un grupo de adultos sanos residentes en Santa Fe de Bogotá. *Acta Med Colomb* 1995; 20:163-168.
31. Craft J, Hardin J. Antinuclear Antibody. En Keley WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB (eds). *Textbook of Rheumatology*. WB Saunders Company, 1993; 164-187.
32. Moder KG. Use and interpretation of rheumatologic test. A guide for clinicians. *Mayo Clin Proc* 1996; 71: 391-396.
33. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman HR. Mixed connective tissue disease-an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med* 1972; 52: 148-159.
34. Guevara S, Restrepo JF, Guzmán R, Rojas C, Peña M, Lizarazo H, Chalem F, Sánchez A, Iglesias A. Lupus Eritematoso Sistémico con anticuerpos anti-Ro/SS-A y fotosensibilidad. *Acta Med Colomb* 1992; 4(Supl): 336. Res 240.
35. Buyon JP, Winchester R. Congenital complete heart block. A human model of passively acquired autoimmune injury. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 609-614.
36. Jiménez CA, Cañas CA, Restrepo JF, Rondón F, Sánchez A, Peña M, Iglesias A. Bloqueo cardíaco completo en lupus eritematoso sistémico. *Acta Med Colomb* 1997; 22: 255-259.
37. Swaak AJ, Huysen V, Smeenk RJ. Antinuclear antibodies in routine analysis: the relevance of putative clinical associations. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 110-114.
38. Vlachoyiannopoulos PG, Drosos AA, Wiik A, Moutsopoulos HM. Patients with anticentromere antibodies, clinical features, diagnoses and evolution. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 297-301.
39. Targoff IN. Humoral immunity in polymyositis/dermatomyositis. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 116S-123S.
40. Love LA, Leff RL, Fraser DD, Targoff IN, Dalakas M, Plotz PH, et al. A new approach to the classification of idiopathic inflammatory myopathy: myositis-specific autoantibodies define useful homogeneous patient groups. *Medicine* 1991; 70: 360-375.
41. Gross WL, Csernoke E, Helmchen U. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies, autoantigens, and systemic vasculitis. *APMIS* 1995; 103:81-97.
42. Gross WL. Antineutrophil Cytoplasmic Autoantibody testing in vasculitides. *Rheum Dis Clin North Am* 1995; 21: 987-1005.
43. Gross WL, Schmitt WH, Csemek E. ANCA and associated diseases: Immunodiagnostic and pathogenetic aspects. *Clin. Exp. Immunol* 1993; 91: 1-12.
44. Gross WL, Hauschild S & Mistry. The Clinical relevance of ANCA in vasculitis. *Clin. Exp. Immunol* 1993b.93 (Suppl. 1): 7-11.
45. Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *B M J*. 1982; 285: 606.
46. Falk RJ, Jennette JC. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis: *N Engl J Med* 1988; 318: 1651-1657.
47. Spronk PE, Bootsma H, Horst G, Huitema MG, Limburg PC, Cohen Tervaert JW, Kallenberg CGM. ANCAS in Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol* 1996; 35: 625-631.
48. Savige JA, Gallighio MC, Stokman A, Cunningham TJ, Rowley MJ. Antineutrophil cytoplasm antibodies in rheumatoid arthritis. *Clin-Exp-Immunology*. 1991; 86: 92-98.
49. Coremans IEM, Hagen EC, Daha MR, Van Der Woude FJ. Anti-lactoferrin antibodies in patients with arthritis are associated with vasculitis. *Arthritis Rheum* 1992; 35:1466-1475.
50. Restrepo JF, Rojas C, González X, Iglesias A. Anticuerpos contra citoplasma de neutrófilo (ancas) en lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoidea: *Revista Colombiana de Reumatología* 1998; 5: 18-26.
51. Hasselbacher P. Arthrocentesis, Synovial Fluid Analysis, and Synovial Biopsy. *Primer on the Rheumatic Diseases*. Tenth Edition. Atlanta, Georgia. Arthritis Foundation 1993; 67-72.