

Artículo original

Proteína C reactiva, marcador inflamatorio asociado con ANCA en tuberculosis pulmonar

Jorge Antonio Esquivel Valerio,* Mario César Salinas Carmona,** Jacqueline Rodríguez Amado,* Adrián Rendón Pérez A,*** Mario Alberto Garza Elizondo*

RESUMEN

Antecedentes: la proteína C reactiva es uno de los marcadores inflamatorios denominados "reactantes de fase aguda" que se produce en el hígado en respuesta a procesos infecciosos o inflamatorios. En los pacientes con tuberculosis se ha descrito la formación de anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA).

Objetivo: determinar la concentración de proteína C reactiva, evaluar su comportamiento como marcador de la respuesta inflamatoria y analizar su correlación con los ANCA en los pacientes con tuberculosis pulmonar, antes y después de iniciar el tratamiento antifímico.

Pacientes: se eligieron pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar. Una vez confirmado el diagnóstico, se obtuvieron las muestras de suero para analizar los datos clínicos y de laboratorios. La determinación de ANCA se realizó con estuches comerciales de inmunofluorescencia y la de proteína C reactiva con ELISA, antes y después de iniciar el tratamiento antifímico.

Resultados: se obtuvieron 50 muestras de suero de pacientes con tuberculosis pulmonar. En la primera (94%) y segunda obtención (90%) de los sueros se registró un valor de proteína C reactiva menor de 5 mg/L. El valor promedio de proteína C reactiva fue de 3.05 ± 8.27 mg/L en la primera muestra y de 4.49 ± 11.2 mg/L en la segunda ($p = 0.46$). Los pacientes positivos a ANCA tuvieron valores más altos de proteína C reactiva en su segunda muestra ($p = 0.001$).

Discusión: existe una asociación entre la proteína C reactiva y la producción de anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos en un subgrupo de pacientes con tuberculosis pulmonar. Su significación es incierta, pero quizá desempeñan alguna función patogénica en la respuesta inflamatoria pulmonar.

Palabras clave: proteína C reactiva, tuberculosis pulmonar, anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos.

ABSTRACT

Background: reactive protein (CRP), is one of the acute inflammatory markers which are called 'acute phase reactants' that are produced in the liver in response to inflammatory or infectious processes. The presence of ANCA formation has been described in patients with tuberculosis (TB).

Objective: Determine the level of CRP, evaluate its behavior as a marker of the inflammatory response and analyze its correlation with ANCAs in patients with TB, before and after initiating treatment for tuberculosis.

Patients: Patients suspected of having TB were selected. Once the diagnosis was confirmed, serum samples were obtained to analyze the clinical and lab data. ANCA determination was done with commercial immunofluorescence kits and the C-reactive protein with ELISA, before and after the treatment for tuberculosis.

Results: Fifty samples of sera from patients with TB were obtained. In the first (94%) and second (90%) collection of sera the level of C-reactive protein registered was less than 5 mg/L. The average level of C-reactive protein was 3.05 ± 8.27 mg/L in the first sample and 4.49 ± 11.2 mg/L in the second sample ($p = 0.46$). ANCA positive patients had higher C-reactive protein levels in their second sample ($p = 0.001$).

Discussion: There is an association between CRP values and the production of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in a subgroup of patients with TB. Its significance is uncertain, but perhaps they play a role in some pathogenic function in response to pulmonary inflammation.

Key words: C-reactive protein, pulmonary tuberculosis (TB), anti-neutrophil cytoplasmic antibodies.

* Servicio de Reumatología.

** Servicio de Inmunología.

*** Servicio de Neumología.

Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL.

Correspondencia: Dr. Jorge A. Esquivel Valerio. Servicio de Reumatología. Facultad de Medicina y Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de la UANL. Avenida Gonzalitos núm. 235 norte, planta baja, colonia Mitras Centro, CP 64020, Monterrey, Nuevo León, México. Tel.: (81) 8348-2015, fax (81) 8348-4668. E-mail: jesquive@yahoo.com

Recibido: febrero, 2007. Aceptado: marzo, 2007.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

La proteína C reactiva es uno de los marcadores inflamatorios denominados "reactantes de fase aguda". Es una proteína fibrilar amiloide de que se produce en el hígado en respuesta a procesos infecciosos (bacterianos) o inflamatorios (artritis reumatoide y vasculitis) y su determinación es útil en el seguimiento de la evolución de dichos padecimientos. La concentración normal en el suero es de 0 a 5 mg/L; con frecuencia se eleva antes que la velocidad de sedimentación globular y disminuye durante la recuperación del enfermo.¹⁻⁴

Se ha reportado un índice, obtenido de su determinación, en el líquido pleural y sérico para diferenciar un exudado pleural maligno de uno secundario a tuberculosis; sin embargo, es limitada para establecer el diagnóstico de tuberculosis debido a su pobre especificidad.⁵⁻⁷

Algunos estudios sugieren que la proteína C reactiva ayuda a distinguir la neumonía bacteriana de la secundaria a tuberculosis; su sensibilidad es de 93.3% y especificidad de 40.9% si la concentración es menor de 11.2 mg/dL.⁸

La tuberculosis es una infección granulomatosa crónica que ha resurgido recientemente. Afecta de manera particular a los pacientes inmunodeprimidos (infectados con VIH) y aquellos con condiciones socioeconómicas de pobreza.

En México, en el año 2005, se reportó una tasa de mortalidad por tuberculosis pulmonar de 1.6 en las mujeres y de 3.8 en los hombres, por cada 100,000 habitantes.⁹

Las infecciones micobacterianas estimulan la respuesta inmunitaria humoral con formación de ciertos autoanticuerpos, como los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA). Anteriormente se pensaba que eran específicos de algunos tipos de vasculitis sistémica.^{11,12} Son autoanticuerpos dirigidos contra los componentes de los gránulos en los neutrófilos y monocitos; se detectan mediante inmunofluorescencia indirecta a partir de la incubación del suero del paciente, cuyos neutrófilos se obtienen de donadores sanos fijados en etanol; su detección se efectúa con un segundo anticuerpo conjugado con fluoresceína para obtener un patrón citoplásmico C-ANCA, uno de inmunofluorescencia perinuclear P-ANCA y uno atípico X-ANCA.

En los pacientes con tuberculosis se han descrito casos con vasculitis en los cortes histológicos.¹³ Se conoce que la tuberculosis se asocia, en algunas ocasiones, con las lesiones cutáneas del eritema nodoso, como ocurre en la granulomatosis de Wegener, y otras vasculitis implicadas con anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos. La relación entre ANCA y tuberculosis se ha descrito recientemente;⁸ sin embargo, los reportes de su prevalencia se mantienen en controversia.^{10,14-17}

El objetivo de este estudio fue determinar la concentración de proteína C reactiva, evaluar su com-

portamiento (inmunoproteína reactante de fase aguda) como marcador de la respuesta inflamatoria y analizar su correlación con los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos en los pacientes con tuberculosis pulmonar, antes y después de iniciar el tratamiento antifímico.

PACIENTES Y MÉTODOS

Criterios de inclusión:

- a) Pacientes mayores de 18 años que firmaron el consentimiento informado.
- b) Pacientes con tuberculosis pulmonar activa que acudieron al Hospital Universitario de la UANL, de septiembre del 2004 a noviembre del 2005, cuyos cultivos fueron positivos a *M. tuberculosis*.

Criterios de exclusión:

- a) Pacientes que rechazaron participar en el estudio.
- b) Pacientes sin confirmación diagnóstica de tuberculosis.
- c) Pacientes menores de 18 años
- d) Mujeres embarazadas
- e) Pacientes positivos a VIH
- f) Pacientes que consumieron medicamentos causantes del *lupus-like syndrome* (procainamida, hidralazina, fenitoína, propiltiouracilo, D-penicilamina y alopurinol).
- g) Pacientes en quimioterapia contra cualquier tipo de cáncer o que consumieran fármacos inmunodepresores.
- h) Pacientes con colitis ulcerativa crónica inespecífica y enfermedad de Crohn
- i) Pacientes en los que no se obtuvo una segunda muestra de suero para comparar las concentraciones de proteína C reactiva.

Este proyecto se evaluó y aprobó por el Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina del Hospital Universitario Dr. José E. González (UANL).

En todos los pacientes se realizó la historia clínica por el médico reumatólogo; se registraron los datos demográficos, baciloscopia del esputo, antecedentes

de vacunación con BCG, COMBE, tiempo de evolución de los síntomas, tiempo de inicio de los síntomas a la primera toma de suero, enfermedades concomitantes, síntomas reumáticos o manifestaciones autoinmunitarias.

En los pacientes con diagnóstico confirmado de tuberculosis se obtuvo una segunda muestra de sangre y se compararon los datos clínicos y los resultados de laboratorio. Para el análisis de datos se consideró la coexistencia o ausencia de micobacterias en las secreciones bronquiales.

Obtención y procesamiento de muestras

Se eligieron los pacientes con sospecha de tuberculosis pulmonar, de los cuales se obtuvo una muestra sanguínea inicial (antes de recibir el tratamiento antifímico). Una vez confirmado el diagnóstico de tuberculosis e iniciado el tratamiento, por parte del Servicio de Neumología del Hospital Universitario, se hizo el seguimiento de los pacientes. En su próxima visita, después de dos a tres meses de iniciar el tratamiento antifímico, se obtuvo una segunda muestra de suero para determinar los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos y la proteína C reactiva.

Se excluyeron a los pacientes con cultivos negativos para tuberculosis y aquellos en los que se detectaron padecimientos granulomatosos (coccidiomicosis) o tuberculosis por micobacterias atípicas.

Todas las muestras sanguíneas se dejaron coagular, se centrifugaron (centrifuga Beckman modelo Allegra 21R; Beckman Coulter, Inc.) y se separó el suero. Los sueros se congelaron a -70°C (congelador vertical REVO modelo ULT2586-3-A36; Kendro Laboratory Products, Asheville, NC) hasta procesar los anticuerpos de interés. Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos se determinaron mediante inmunofluorescencia indirecta (Immunoconcepts, Cal, USA).

Los pacientes con patrón P-ANCA, en los neutrófilos fijados en etanol, se confirmaron con el sustrato de neutrófilos fijados en formalina y con anticuerpos antinucleares en el sustrato de células Hep-2. Las determinaciones se hicieron por duplicado.

Se utilizaron equipos comerciales para determinar dichos anticuerpos (se siguió la metodología recomendada para cada reactivo). La inmunofluorescencia indirecta se realizó con laminillas comerciales con

neutrófilos fijados en etanol y formaldehído (Immunoconcepts, Cal, EUA).

La determinación de proteína C reactiva se hizo con el reactivo manufacturado por *Randox Laboratories Ltd.* (Antrim, Gran Bretaña). Se utilizó un espectrofotómetro marca Beckman, modelo DU-6 (Beckman Instruments Inc.) .

La interpretación de los ensayos se efectuó con base en los resultados de curvas optimizadas comparadas con los controles y con los valores de referencia probados por el fabricante.

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para las variables continuas (promedio y desviación estándar) y se realizó la prueba de la *t* de Student para la distribución normal o la prueba de Wilcoxon-U-Mann-Whitney en caso contrario. Para las variables no continuas o categóricas se eligió la prueba de χ^2 y las tablas de contingencia 2×2 con la prueba exacta de Fisher si la frecuencia, en alguna de las celdas, era menor de 5. Se realizó el análisis multivariado de regresión logística (método Enter) para las variables que resultaran con valores $p < 0.1$ en el método univariado. Se consideró significativo el valor menor de 0.05

RESULTADOS

Se obtuvieron 76 sueros de pacientes con síntomas sugestivos de tuberculosis pulmonar, de los cuales 68 (89.5%) tuvieron baciloscopias de esputo, lavado bronquial y cultivo confirmado de *M. tuberculosis*; tres pacientes resultaron con micobacterias atípicas; cuatro con coccidiomicosis, y uno con cultivo negativo.

En la primera muestra de suero se detectó VIH en 5 de 68 (7.35%) pacientes con tuberculosis pulmonar. De este grupo, 3 (4.4%) casos resultaron positivos a ANCA (uno con C-ANCA y dos con P-ANCA) y su media de proteína C reactiva fue de 4.91 ± 2.51 mg/L.

En los pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar se inició el tratamiento con isoniacida, rifampicina, pirazinamida y etambutol; continuaron con el mismo esquema hasta la segunda obtención de suero.

Después de recibir el tratamiento, sólo se obtuvo la segunda muestra en 52 (76.47%) de los 68 pacientes.

En 2 (3.8%) se detectó VIH y se excluyeron del análisis estadístico.

Las características de los 50 pacientes restantes, cuyos sueros se estudiaron antes y después de recibir el tratamiento antifímico, se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Características demográficas y clínicas de los 50 pacientes con tuberculosis pulmonar confirmada

	n(%)
Masculinos	29 (40)
Edad (años) media $\pm$ DS	40.72 (15.07)
Drogadicción	7 (14)
Tabaquismo	14 (26.66)
Diabetes	20 (40)
Alcoholismo	14 (28)
Artralgias	1 (2)
Uso de corticoesteroides	1 (2)
Número de días con síntomas antes de la primera obtención (media $\pm$ DS)	73.68 (61.36)
Días entre el inicio del tratamiento antifímico y la segunda obtención de la muestra (media $\pm$ DS)	106.0 (60.77)

Uno de los pacientes que manifestó artralgias resultó con ANCA negativos mediante inmunofluorescencia indirecta y ELISA. En 38 (76%) pacientes se obtuvieron baciloscopias positivas cuando se analizaron por primera vez (11 tuvieron reporte de una cruz, seis de dos, 15 de tres y seis de cuatro).

Esta misma cantidad de pacientes registraron antecedentes de aplicación o cicatriz de la vacuna de BCG. El antecedente de contacto con personas enfermas de tuberculosis (COMBE) se documentó en 15 (30%) casos. Uno de los cultivos positivos para tuberculosis, con antibiograma, resultó con multiresistencia en 5 (10%) casos.

Después de prescribir el tratamiento antifímico se detectaron anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos en 15 (30%) sueros: tres con patrón C-ANCA y 12 con P-ANCA. No hubo correlación entre la coexistencia de ANCA y la edad, sexo, tiempo de evolución de los síntomas, duración del tratamiento antifímico, baciloscopias, hallazgos radiográficos, enfermedades concomitantes o farmacoterapia.

En la primera y segunda obtención de los sueros se registró una concentración de proteína C reactiva de menor de 5 mg/L en 94 y 90% e los casos, respectivamente (cuadro 2).

Cuadro 2. Relación de sueros y proteína C reactiva

	n ^a (%)	n ^b (%)	p
> 5 mg/L	3 (6%)	5 (10%)	0.22*
< 5 mg/L	47 (94%)	45 (90%)	0.22
Total de sueros	50 (100%)	50 (100%)	

La media de proteína C reactiva fue de 3.05 mg/L ($\pm$ 8.27) en los sueros de la primera obtención (^aantes de tratamiento antifímico) y 4.49 mg/L ($\pm$ 11.2) en el segundo suero (^bdurante el tratamiento antifímico ($p = 0.46$)). * Prueba de Fisher.

El valor promedio de proteína C reactiva fue de 3.05 ± 8.27 mg/L en la primera muestra y de 4.49 ± 11.2 mg/L en la segunda ($p = 0.46$). No se encontró significación estadística entre la proporción de sueros antes de iniciar el tratamiento antifímico y la proteína C reactiva (> 5 mg/L) de los pacientes positivos a ANCA positivos ($p = 0.152$). Los valores absolutos de la segunda muestra de suero tuvieron significación estadística; ésta correspondió a la media de valores más elevados de proteína C reactiva en los pacientes positivos a ANCA ($p = 0.001$) (figura 1).

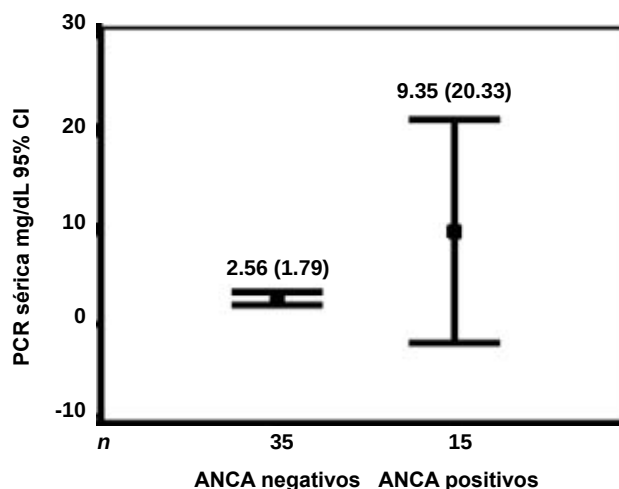


Figura 1. Comparación entre los valores de proteína C reactiva en sueros de segunda toma de pacientes con tuberculosis con ANCA positivos comparados con pacientes ANCA negativos después de recibir tratamiento antifímico. Las diferencias fueron estadísticamente significativas $p = 0.001$ (prueba de Wilcoxon-U-Mann-Whitney).

Después de realizar el análisis multivariado de regresión logística (Enter), con las variables del análisis univariado $p < 0.1$ (genero, radiografía del tórax con

infiltrado intersticial y proteína C reactiva), se observó que sólo los valores absolutos de proteína C reactiva mostraron significación estadística ($p = 0.028$).

DISCUSIÓN

En todos los pacientes se confirmó la tuberculosis mediante baciloscopia. Se incluyeron sólo los pacientes con tuberculosis pulmonar activa que recibieron el mismo tipo de tratamiento al momento de la segunda obtención de suero.

Aunque en este estudio se observó una mayor asociación entre ANCA (mediante inmunofluorescencia) y tratamiento con antifímicos, no puede concluirse, debido al diseño del estudio, que dichos medicamentos son los agentes causales de la coexistencia de anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos.

Son pocos los reportes que describen la asociación entre proteína C reactiva y tuberculosis.^{5,7} Algunos estudios reportan que la proteína C reactiva resulta negativa en 13.3% de los pacientes con baciloscopias positivas y hasta en 73% de los pacientes con baciloscopias negativas.⁶

En este estudio, contrario a lo esperado, la concentración de proteína C reactiva fue menor de 5 mg/L en la mayoría de pacientes con tuberculosis; sin embargo, dichos hallazgos coinciden con la prevalencia de concentraciones bajas de proteína C reactiva en los pacientes con este padecimiento.⁸

La proteína C reactiva es un marcador inflamatorio para pronosticar la reacción del tratamiento antifímico, donde se observa que las concentraciones del reactante de fase aguda disminuyen cuando se eleva la hemoglobina, principalmente en los pacientes con tuberculosis pulmonar que responden al tratamiento.¹⁸ Desafortunadamente, este factor no pudo evaluarse en este estudio.

La relación estadística entre proteína C reactiva y la coexistencia de ANCA en el suero de pacientes con tuberculosis pulmonar, antes y después de recibir tratamiento antifímico, sugiere que la respuesta inflamatoria es mayor cuando coexisten dichos anticuerpos o quizás participen en la respuesta inflamatoria pulmonar, al igual que se describe en algunas vasculitis u otros procesos inflamatorios pulmonares.^{19,20}

Se necesitan estudios que proporcionen información específica relacionada con la función de algunos autoanticuerpos y su asociación con las deferentes citocinas y reactantes de fase aguda, con los cuales se tendrá un mejor conocimiento de la inmunopatogenia de la tuberculosis pulmonar.

Agradecimientos

A los doctores: Rolando Tijerina Menchaca, Agnes Revol de Mendoza, Luis Felipe Flores-Suárez, Eloy Cárdenas, Fernando Góngora e Iris Colunga por sus valiosas sugerencias.

Al Q.F.B. Andrés Mendiola por su asesoría en el laboratorio.

Financiamiento: Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT 2006, UANL). Clave del proyecto SA1440-6.

REFERENCIAS

1. Unsal E, Aksaray S, Koksai D, Sipit T. Potential role of interleukin 6 in reactive thrombocytosis and acute phase response in pulmonary tuberculosis. *Postgrad Med J* 2005;81:604-7.
2. Parikh M, Miller NR, Lee AG, Savino PJ, et al. Prevalence of a normal C-reactive protein with an elevated erythrocyte sedimentation rate in biopsy-proven giant cell arteritis. *Ophthalmology* 2006;113:1842-5.
3. Peng Q, Wu Q, Chen CH, Hong H, Zhang LY. Value of serum soluble interleukin-2R, interleukin-6 and C-reactive protein in the early diagnosis of Kawasaki disease. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2006;8:208-10.
4. Udvamoki K, Cervenak L, Uray K, Hudecz F, et al. Antibodies against C-reactive protein cross-react with 60-kilodalton heat shock proteins. *Clin Vaccine Immunol* 2007;14:335-41.
5. Chierakul N, Kanitsap A, Chaiprasert A, Viriyataveekul R. A simple C-reactive protein measurement for the differentiation between tuberculous and malignant pleural effusion. *Respirology* 2004;9:66-69.
6. Ito K, Yoshiyama T, Wada M, Ogata H. C-reactive protein in patients with bacteriological positive lung tuberculosis. *Kekkaku* 2004;79:309-11.
7. Koyanagi A, Kuffo D, Gresely L, Shenkin A, Cuevas LE. Relationships between serum concentrations of C-reactive protein and micronutrients, in patients with tuberculosis. *Ann Trop Med Parasitol* 2004;98:391-9.
8. Choi CM, Kang CI, Jeung WK, Kim DH, et al. Role of the C-reactive protein for the diagnosis of TB among military personnel in South Korea. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:233-6.
9. Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS). 2005. Dirección URL: <<http://sinais.salud.gob.mx/mortalidad/>>
10. Flores-Suarez LF, Cabiedes J, Villa AR, van der Woude FJ, Alcocer-Varela J. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with tuberculosis. *Rheumatology (Oxford)* 2003;42:223-9.
11. Niles JL, McCluskey RT, Ahmad MF, Arnaout MA. Wegener's

- granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. *Blood* 1989;1;74:1888-93.
12. Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985;1:425-9.
 13. Gordon C, Luqmani R, Fields P, Howie AJ, Emery P. Two cases of 'Wegener's tuberculosis'. *Br J Rheumatol* 1993;32:143-9.
 14. Mahr A, Teixeira L, Jauregui F, Noeumll L, et al. Low seroprevalence and poor specificity of anti-neutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) in tuberculosis [abstract]. *Ann Rheu Dis* 2004;63:314.
 15. Teixeira L, Mahr A, Jauregui F, Noel LH, et al. Low seroprevalence and poor specificity of antineutrophil cytoplasmic antibodies in tuberculosis. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:247-50.
 16. Dannenberg L, Haubitz M, Schaberg T, Hummel S, Globel U. Pulmonary tuberculosis and ANCA [abstract]. *Clin Exp Immunol* 1998;112:35.
 17. Pradhan VD, Badakere SS, Ghosh K, Pawar AR. Spectrum of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with pulmonary tuberculosis overlaps with that of Wegener's granulomatosis. *Indian J Med Sci* 2004;58:283-8.
 18. Lawn SD, Obeng J, Acheampong JW, Griffin GE. Resolution of the acute-phase response in West African patients receiving treatment for pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000;4:340-4.
 19. Dorlochter L, Carlsson M, Olafsdottir EJ, Roksund OD, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and lung disease in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2004;3:179-83.
 20. Schultz H, Heintz H, van Zandbergen G, Ullrich S, et al. ANCA against the bactericidal/permeability increasing protein (BPI-ANCA) can compromise the antibiotic function of BPI in a Wegener's granulomatosis patient. *Clin Exp Rheumatol* 2003;21:763-6.